



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**“EVALUACIÓN DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE  
*Passiflora mixta* Y PRE FORMULACIÓN DE UN ELIXIR”**

**Trabajo de titulación presentado para optar al grado académico de:**  
**BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO**

**AUTORA:** AUCAPIÑA BARZOLA ANGIE PAOLA

**TUTORA:** Dra. SUSANA ABDO, M.Sc

Riobamba-Ecuador

2017

**©2017, Angie Paola Aucapiña Barzola**

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el derecho de autor.

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

El tribunal de tesis certifica: El trabajo de investigación: “EVALUACIÓN DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE *Passiflora mixta* y PRE FORMULACIÓN DE UN ELIXIR”, de responsabilidad de la señorita Angie Paola Aucapiña Barzola, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

**FIRMA**

**FECHA**

Dra. Susana Abdo, M.Sc

**DIRECTORA DE TRABAJO  
DE TITULACIÓN**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

BQF Diego Vinueza Tapia M.Sc.

**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Yo, Angie Paola Aucapiña Barzola soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en este Proyecto de Titulación y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 20 abril del 2017

---

ANGIE PAOLA AUCAPIÑA BARZOLA

CI: 210114754-0

## **DEDICATORIA**

A Dios quién supo guiarme por el buen camino, darme fuerza para seguir adelante y no desmayar en los problemas que se me presentaban, enseñándome a encarar las adversidades sin perder nunca la dignidad ni desfallecer en el intento.

A mi familia que es mi pilar fundamental, mi fortaleza y mi inspiración para lograr mis metas.

A Tommy mi compañerito fiel.

Angie

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco infinitamente a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por ser el cimiento en la construcción de mi vida profesional.

A mis Padres por ser mi fuerza, por su amor incondicional, por darme siempre palabras de aliento, esperanza que me motivaron a luchar y alcanzar mis logros.

A ti Luis por estar en las buenas y en las malas, te admiro por ser un hombre de nobles sentimientos y sobre todo que siempre he recibido de ti felicidad y amor.

A mis amigas por brindarme su apoyo, por los momentos tan agradables e inolvidables que llevaré siempre en mi corazón.

A mis profesores que durante toda la carrera me brindaron sus conocimientos y en especial a la Dra. Susana Abdo y al BQF. Diego Vinueza por la ayuda, sus orientaciones, su paciencia y respeto brindados durante la elaboración de esta investigación, a quienes puedo decir de todo corazón

GRACIAS.

Angie

## ÍNDICE DE ABREVIATURA

<b>%</b>	Porcentaje
<b>mg</b>	Miligramos
<b>G</b>	Gramos
<b>Kg</b>	Kilogramo
<b>pH</b>	Potencial de Hidrogeno
<b>°T</b>	Temperatura
<b>EtOH</b>	Etanol
<b>MeOH</b>	Metanol
<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	Ácido Sulfúrico
<b>U.V</b>	Ultravioleta
<b>CCF</b>	Cromatografía en capa fina
<b>mL</b>	Mililitro
<b>°C</b>	Grados Celsius
<b>Rf</b>	Factor de Retención
<b>OMS</b>	Organización mundial de la Salud
<b>TAG</b>	Trastorno de Ansiedad Generalizada
<b>SNC</b>	Sistema Nervioso Central
<b>BZD</b>	Benzodicepínicos
<b>Acetil-Co</b>	A Acetil-Coenzima A
<b>UI</b>	Unidades Internacionales
<b>C6</b>	Carbono 6
<b>C3</b>	Carbono 3

## TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE ABREVIATURA .....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS .....	xi
ÍNDICE DE TABLAS .....	xii
ÍNDICE DE GRÁFICOS .....	xiv
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xv
RESUMEN.....	xvi
ABSTRACT .....	¡Error! Marcador no definido.
INTRODUCCIÓN .....	1

## CAPITULO I

1. MARCO TEORICO .....	4
1.1. Bases teóricas .....	4
1.1.1. Salud mental .....	4
1.1.2. Ansiedad .....	4
1.1.3. Benzodiacepinas .....	5
1.1.4. Barbitúricos .....	8
1.1.5. Dependencia a fármacos ansiolíticos .....	9
1.1.6. La medicina tradicional .....	10
1.1.7. La fitoterapia .....	10
1.1.8. Passiflora .....	11
1.1.9. Composición fitoquímica .....	11
1.1.10. Especie de Passiflora .....	12
1.1.11. Flavonoides representativos en el género de la Passiflora .....	12
1.1.11.1. Flavona .....	12
1.1.11.2. Flavanol .....	14
1.1.12. Taxo (Pasiflora mixta var. mixta) .....	15
1.1.13. Propiedades Farmacológica .....	16
1.1.14. Dosis efectiva .....	17
1.1.15. Toxicidad .....	17
1.1.16. Formas Farmacéuticas .....	17
1.1.17. Elixires .....	18
1.1.18. Ventajas y desventajas de los elixires .....	18
1.1.19. Características de los elixires .....	19
1.1.20. Excipientes .....	19



1.1.21.	<i>Control de calidad</i> .....	24
1.1.22.	<i>Estudio de estabilidad al extracto</i> .....	24
1.1.23.	<i>Estudios de Estabilidad</i> .....	24
1.1.24.	<i>Motivos por los que se realiza un estudio de estabilidad.</i> .....	25
1.1.25.	<i>Inestabilidad de medicamentos</i> .....	25
1.1.26.	<i>Causas de inestabilidad de medicamentos</i> .....	26
1.1.27.	<i>Tipos de estudios de estabilidad</i> .....	26

## CAPITULO II

2.	<b>MARCO METODOLÓGICO</b> .....	27
2.1.	<b>Recolección del Materia vegetal</b> .....	27
2.2.	<b>Identificación botánica</b> .....	27
2.3.	<b>Lugar de investigación</b> .....	27
2.4.	<b>Materiales, equipo y reactivos</b> .....	28
2.4.1.	<i>Materiales</i> .....	28
2.4.2.	<i>Equipos</i> .....	29
2.4.3.	<i>Reactivos</i> .....	30
2.5.	<b>Procedimiento de la muestra</b> .....	31
2.5.1.	<i>Secado y molienda</i> .....	31
2.6.	<b>Control de calidad de la droga vegetal</b> .....	31
2.6.1.	<i>Determinación de humedad</i> .....	31
2.6.2.	<i>Determinación de cenizas totales, solubles en agua e insolubles en ácidos</i> .....	31
2.6.3.	<i>Determinación de sustancia solubles</i> .....	31
2.7.	<b>Obtención del extracto Hidroalcohólico al 85% de <i>Passiflora mixta</i> var. <i>mixta</i></b> ....	32
2.8.	<b>Control de calidad del extracto Hidroalcohólico de <i>Passiflora mixta</i></b> .....	32
2.9.	<b>Tamizaje Fitoquímico</b> .....	32
2.10.	<b>Pre estabilidad del Extracto de <i>Passiflora mixta</i></b> .....	33
2.11.	<b>Cromatografía en capa delgada del extracto hidroalcohólico para la identificación de flavonoides</b> .....	33
2.12.	<b>Cuantificación de flavonoides totales por espectrofotometría</b> .....	35
2.13.	<b>Cuantificación de fenoles totales</b> .....	36
2.14.	<b>Capacidad captadora de radicales libres in vitro. Método DPPH*</b> .....	36
2.15.	<b>Control calidad de los excipientes</b> .....	37
2.15.1.	<i>Alcohol Etílico (alcohol potable)</i> .....	38
2.15.2.	<i>Propilenglicol</i> .....	38
2.15.3.	<i>Propil parabeno sódico</i> .....	38

2.15.4.	<i>Metilparabeno</i> .....	39
2.15.5.	<i>Ácido cítrico</i> .....	39
2.15.6.	<i>Ácido ascórbico</i> .....	39
2.15.7.	<i>Citrato sódico</i> .....	40
2.16.	<i>Pre formulación del elixir</i> .....	40
2.16.1.	<i>Proceso de preparación del elixir:</i> .....	42
2.16.2.	<i>Almacenamiento de las formulaciones</i> .....	43
2.17.	Control de calidad del producto terminado .....	43
2.18.	Estabilidad acelerada .....	43
2.19.	Control microbiológico del elixir.....	43
2.20	Análisis estadístico de datos .....	43

### CAPITULO III

3.	MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS..	45
3.1	Control de calidad de la materia prima.....	45
3.2	Determinación de los parámetros de calidad del extracto fluido .....	46
3.3	Determinación de parámetros físicos químicos.....	46
3.4	Tamizaje Fitoquímico del extracto hidroalcohólico 85% de <i>Passiflora mixta</i> .....	47
3.5	Cromatografía en capa fina del extracto hidroalcohólico de ( <i>Passiflora mixta</i> ) para Flavonoides .....	48
3.6	Cuantificación de metabolitos secundarios .....	50
3.7	Cuantificación de radicales libres .....	53
3.8	Control de calidad de los excipientes .....	54
3.9	Control de estabilidad de los extracto a diferentes condiciones .....	57
3.10	Control del elixir .....	64
	CONCLUSIONES.....	72
	RECOMENDACIONES.....	73
	BIBLIOGRAFÍA	
	ANEXOS	

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1-1:</b> Mecanismo de acción del GABA y de la BDZ .....	7
<b>Figura 2-1:</b> Modelo estructural del receptor de GABA y sitio de unión a barbitúricos.....	9
<b>Figura 3-1:</b> Estructura de la Flavona.....	12
<b>Figura 4-1:</b> Estructura de Flavonol .....	14
<b>Figura 5-1:</b> Fórmula estructural Propilparabeno.....	20
<b>Figura 6-1:</b> Fórmula estructural Metil parabeno.....	21
<b>Figura 7-1:</b> Formula estructural del Ácido ascórbico .....	21
<b>Figura 8-1:</b> Fórmula estructural del Ácido cítrico monohidratado .....	22
<b>Figura 9-1:</b> Fórmula estructural Acetato de sodio .....	23
<b>Figura 1-2:</b> Medición del Rf.....	34

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-1:</b> Fármacos más utilizados en el tratamiento de los diferentes tipos de ansiedad .....	5
<b>Tabla 2-1:</b> Vida media de las benzodiacepinas según tipo de acción .....	6
<b>Tabla 3-1:</b> Composición de varias especies de <i>Passifloras</i> .....	12
<b>Tabla 4-1:</b> Ejemplo de Flavona .....	13
<b>Tabla 5-1:</b> Ejemplo de Flavonoles .....	14
<b>Tabla 6-1:</b> Clasificación Taxonómica .....	15
<b>Tabla 7-1:</b> Principales caracteres cualitativos polimórficos de <i>Passiflora mixta</i> .....	16
<b>Tabla 1-2:</b> Materiales usados en las diferentes pruebas .....	28
<b>Tabla 2-2:</b> Equipos utilizados en los diferentes ensayos.....	29
<b>Tabla 3-2:</b> Reactivos utilizados en los diferentes ensayos .....	30
<b>Tabla 4-2:</b> Excipientes utilizados en la elaboración de los elixires .....	37
<b>Tabla 5-2:</b> Pre formulación del elixir a pH4 .....	40
<b>Tabla 6-2:</b> Pre formulación del elixir a pH 5 .....	41
<b>Tabla 7-2:</b> Pre formulación del elixir a pH 6 .....	42
<b>Tabla 1-3:</b> Control de calidad de la droga de la <i>Passiflora mixta</i> .....	45
<b>Tabla 2-3:</b> Resultado organolépticos del extracto de <i>Passiflora mixta</i> .....	46
<b>Tabla 3-3:</b> Resultado de los parámetros físicos-químicos del extracto fluido de <i>Passiflora mixta</i> .....	46
<b>Tabla 4-3:</b> Tamizaje Fitoquímico del extracto Hidroalcohólico de <i>Passiflora mixta</i> .....	47
<b>Tabla 5-3:</b> Cromatografía en capa fina de la fracción flavónica glicosilada del extracto .....	48
<b>Tabla 6-3:</b> Curva de calibración de ácido gálico por el método de Folin- Ciocalteu.....	50
<b>Tabla 7-3:</b> Resultados de la cuantificación de fenoles totales del extracto hidroalcohólico de <i>Passiflora mixta</i> .....	51
<b>Tabla 8-3:</b> Resultados de la cuantificación de flavonoides totales del extracto fluido de <i>Passiflora mixta</i> .....	52
<b>Tabla 9-3:</b> Resultados de los radicales libres .....	53
<b>Tabla 10-3:</b> Control de calidad de los excipientes, Metilparabeno para la elaboración del elixir de <i>Passiflora mixta</i> .....	54
<b>Tabla 11-3:</b> Control de calidad de los excipientes, Propilparabeno para la elaboración del elixir de <i>Passiflora mixta</i> .....	55
<b>Tabla 12-3:</b> Control de calidad de los excipientes, Ácido cítrico para la elaboración del elixir de <i>Passiflora mixta</i> . ....	55
<b>Tabla 13-3:</b> Control de calidad de los excipientes, Ácido ascórbico para la elaboración del elixir de <i>Passiflora mixta</i> .....	56

<b>Tabla 14-3:</b> Control de calidad de los excipientes, Citrato sódico para la elaboración del elixir de <i>Passiflora mixta</i> .....	56
<b>Tabla 15-3:</b> Control de estabilidad del extracto de <i>Passiflora mixta</i> a medio ácido.....	57
<b>Tabla16-3:</b> Control de estabilidad del extracto de <i>Passiflora mixta</i> a medio alcalino.....	58
<b>Tabla 17-3:</b> Control de estabilidad del extracto de <i>Passiflora mixta</i> a medio Peróxido .....	59
<b>Tabla 18-3:</b> Control de estabilidad del extracto de <i>Passiflora mixta</i> expuesto a luz. ....	60
<b>Tabla 19-3:</b> Test Anova para la concentración de extracto.....	61
<b>Tabla 20-3:</b> Test de pos-hoc HSD Tukey para la comparación de condiciones extremas .....	62
<b>Tabla 21-3:</b> Test pos- hoc HSD tukey de grupos homogéneos de concentraciones a diferentes condiciones extremas .....	62
<b>Tabla 22-3:</b> Análisis sensorial del elixir .....	64
<b>Tabla 23-3:</b> Determinación del pH y densidad del elixir .....	65
<b>Tabla 24-3:</b> Resultado del porcentaje de pérdida de volumen .....	65
<b>Tabla 25-3:</b> Análisis microbiológico del elixir .....	66
<b>Tabla 26-3:</b> Test de Anova para concentración de los elixires .....	67
<b>Tabla 27-3:</b> Test de pos-hoc HSD Tukey para la comparación de los elixires a diferentes pH.....	68
<b>Tabla 28-3:</b> Test pos-hoc HSD Tukey de grupos homogéneos de concentraciones a diferentes pH.....	68
<b>Tabla 29-3:</b> Test de pos-hoc HSD Tukey para la comparación de los elixires a diferentes días.....	70
<b>Tabla 30-3:</b> Test pos-hoc HSD Tukey de grupos homogéneos de concentraciones a diferentes días .....	70

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1-1:</b> Taxo ( <i>Passiflora mixta</i> var <i>mixta</i> ) .....	15
<b>Gráfico 1-2:</b> Flujo grama de cromatografía en capa fina (CCF).....	34
<b>Gráfico 2-2:</b> Flujo grama cuantificación de Flavonoides.....	35
<b>Gráfico 3-2:</b> Esquema de la capacidad captadora de radicales libres.....	37
<b>Gráfico 1-3:</b> Curva de calibración de Fenoles totales.....	51
<b>Gráfico 2-3:</b> Curva de radicales libres.....	53
<b>Gráfico 3-3:</b> Gráfico de las concentraciones en condiciones extremas .....	63
<b>Gráfico 4-3:</b> Gráfico de concentraciones en diferentes días.....	64
<b>Gráfico 5-3:</b> Gráfico de las concentraciones a diferentes pH.....	69
<b>Gráfico 6-3:</b> Gráfico de las concentraciones a diferentes días .....	71

## ÍNDICE DE ANEXOS

**ANEXO A:** Recolección de la materia vegetal- *Passiflora mixta*

**ANEXO B:** Secado de la materia vegetal

**ANEXO C:** Control de calidad de la material vegetal

**ANEXO D:** Elaboración del extracto hidroalcohólico de *Passiflora mixta*

**ANEXO E:** Tamizaje Fitoquímico del extracto hidroalcohólico de *Passiflora mixta*

**ANEXO F:** Cromatografía de capa fina del extracto de *Passiflora mixta*

**ANEXO G:** Cuantificación por espectrofotometría UV de fenoles y flavonoides del extracto hidroalcohólico de *Passiflora mixta*

**ANEXO H:** Estabilidad del extracto hidroalcohólico de *Passiflora mixta* a diferentes condiciones

**ANEXO I:** Curva de calibración del estándar de Quercetina

**ANEXO J:** Pre formulación de los elixires a pH 4, pH 5 y pH 6

**ANEXO K:** Resultados de las concentraciones a diferentes condiciones

**ANEXO L:** Resultados de las concentraciones a diferentes pH

**ANEXO M:** Certificado de identificación de la *Passiflora mixta*

**ANEXO N:** Autorización, trabajo de titulación "Evaluación del extracto hidroalcohólico de *Passiflora mixta* y pre formulación de un elixir"

## RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar el extracto hidroalcohólico al 85% de *Passiflora mixta* y pre formulación de un elixir; se evaluó los parámetros de calidad en la materia vegetal según las especificaciones de la Farmacopea Española. El extracto hidroalcohólico se extrajo por percolación y el control de calidad se realizó según la metodología recomendada en la Norma Ecuatoriana de Fitofármacos. Se determinó la presencia de grupos químicos mediante el tamizaje fitoquímico; se realizó la identificación presuntiva de flavonoides glicosilados por Cromatografía de capa fina (TLC); se cuantificaron fenoles y flavonoides totales en el extracto de *P. mixta*; mediante el ensayo de captación de radicales libres con el radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH\*) se determinó la actividad antioxidante del extracto, se realizó un estudio de estabilidad para productos naturales al extracto de *P. mixta* para identificar en que medio es estable. El control de calidad de los excipientes se realizó según los parámetros establecidos en la Farmacopea Americana. Los elixires a pH 4,5 y 6 se envasaron en frascos ámbar y se sometieron a un estudio de estabilidad acelerada a temperatura de 45 °C por 30 días, mediante análisis cromatográficos y espectrofotométricos se comprobó la degradación de flavonoides en las formulaciones, finalmente con los análisis microbiológicos oficiales se garantizó la calidad del producto terminado, según la metodología de la USP 28. El contenido fenólico fue 495 mg de AG /mL de extracto, flavonoides fue 24,008 mg EQ/ mL extracto de *P. mixta* y el IC<sub>50</sub> fue de 168,14 µg/mL Se concluye que el elixir a pH 5 presentó una concentración de 23, 21 mg EQ/ mL cercano al valor del extracto de *P. mixta*. Se recomienda realizar un estudio de estabilidad acelerada a largo plazo para verificar que no se alteren las características organolépticas y físico-químicas del producto.

**PALABRAS CLAVE:** <BIOQUÍMICA>, <FITOQUÍMICA>, < TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA>, <CURUBA DE MONTE (*Passiflora mixta*)>, <ANSIEDAD>, <FLAVONOIDES>, <EXCIPIENTES>, <PRE FORMULACIÓN>.



## SUMMARY

The current research work aimed to assess the hydro alcoholic extract to 85% of *Passiflora mixta* and the pre formulation of an elixir; the quality standards of the vegetable matter were assessed according to the specifications of the Spanish Farmacopea. The hydro alcoholic extract was gotten by percolation and the quality control was performed according to the methodology suggested in the Ecuadorian Phyto pharmaceuticals Norm. It was determined the presence of chemical group by means of phytochemical screening; it was made the presumptive identification of glycosylated flavonoids by Chromatography of Thin Layer (CTL); Whole Phenols and flavonoids were quantified in the extract of *P. mixta*; by means of the essay of catchment of free radicals with the radical 2,2-difenil-1-picrilhydrazil. (DPPH\*) the antioxidant activity of the extract was determined, it was also made stability environment. The control of quality of the excipients was made regarding the parameters stated in the American Farmacopea. The elixirs to pH 4,5 and 6 were bottled in amber containers and were subjected to an accelerated stability study at 45°C for 30 days, by means of chromatographic and spectrophotometrical analysis, the degradation of flavonoids in the formulas was proved and finally, with the official microbiological analysis it was guaranteed the quality of the final product, according to the methodology of the USP 28. The phenolic content was 495 mg GAE/ mL of extract, flavonoids were 24,008 mg QE/ mL extract of *P. mixta* and the IC<sub>50</sub> was 168,14 µl/mL. It is concluded that the elixir to pH5 showed a concentration of 23,21 mg QE/mL close to the value of the *P. mixta* extract. It is recommended to carry out an accelerated stability study in the long run to verify that the organoleptic and physical-chemical characteristics of the product do not get altered.

**KEY WORDS:** <BIOCHEMICAL>, <PHYTOCHEMICAL>, <PHARMACEUTICAL TECHNOLOGY>, <WILD CURUBA (*Passiflora mixta*)>, <ANXIETY>, < FLAVONIDS>, <EXCIPIENTS>, <PRE FORMULATION>.

## INTRODUCCIÓN

Desde tiempos inmemorables el hombre ha hecho uso de la Naturaleza para tratar de satisfacer sus necesidades básicas, y su uso como agente de la salud ha sido de gran importancia para el tratamiento de diversas patologías, para curar o aliviar y evitar el desarrollo de otras enfermedades. La importancia que han recuperado las plantas en la medicina tradicional ha contribuido a mantener la salud e incrementar la calidad de vida del hombre. El 80 % de la población mundial ha preferido utilizar la medicina tradicional para satisfacer sus necesidades primarias de salud. (Méndez ,2006, pp. 32-39)

Las plantas se consideran un verdadero arsenal químico, gracias a que están constituidas por un complejo metabolismo, los metabolitos secundarios son sintetizados por las plantas en pequeñas cantidades y presentan actividad biológica, su concentración depende de diferentes condiciones, tales como: humedad del suelo, genética, condiciones de luz, temperatura y otros. Por lo que son empleados en el desarrollo de fitofármacos o como: parte de la síntesis de utilidad terapéutica, entre ellos podemos encontrar los alcaloides, flavonoides, taninos, saponinas, poli fenoles, etc. ( Avello et al., 2010, pp. 1288-1289)

La aplicación de productos naturales para la elaboración de fitofármacos, permitirá adoptarlos como una terapia alternativa para el cuidado de la salud de la población mundial y concientizar sobre el uso irracional de medicamentos sintéticos. Los medicamentos a base de plantas medicinales buscan minimizar la aparición de efectos indeseados a comparación de los fármacos sintéticos. (Meletis,C. 2009, p. 1096)

Con respecto a la salud mental, es parte fundamental de la salud y el bienestar para la población, la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2013, p.8) define a la salud como: «Es un estado de completo bienestar físico, mental y social, y no solamente la ausencia de afecciones o enfermedades». Una importante consecuencia de esta definición es que considera la salud mental como algo más que la ausencia de trastornos o discapacidades mentales. La OMS afirma que la salud mental es tan imprescindible como la salud física para el completo bienestar de las personas, las sociedades y los países.(OMS, 2013, p. 8)

La ansiedad es uno de los trastornos mentales más comunes en el mundo, para el tratamiento se emplean barbitúricos que han sido reemplazados por otros psicofármacos por ocasionar efectos secundarios severos. De acuerdo con la Food and Drug Administration (FDA), las benzodiacepinas son los psicofármacos de elección más comunes para el tratamiento de la

ansiedad, sin embargo, su consumo irracional produce tolerancia, dependencia y la interrupción induce a un síndrome de abstinencia. (Rodríguez et al, 2008, pp. 43-74)

Se determinó que el 80% de la población depende de las plantas medicinales para su atención primaria de la salud. Es por ello la importancia que ha retomado el uso de las plantas medicinales ha sido un estímulo para rescatar a la medicina tradicional, esto se debe a la escasa toxicidad que presenta esta medicina respecto a la gran nocividad de los medicamentos sintéticos, y a la limitación que poseen ciertos países en desarrollo de conseguir medicamentos sintéticos a bajo costo, por lo que se les dificulta adquirirlos. (Cardoso & Verdecia, 1997, pp. 30-33)

Se ha vuelto importante que la industria farmacéutica desarrolle más fitofármacos e incorpore al campo de la salud pública, por otro lado conocer el valor farmacológico de las diferentes plantas, ya que el Ecuador es rico en recursos vegetal o plantas nativas, que viene siendo una oportunidad para las exportaciones de productos farmacéuticos en el país.

Con la ayuda de la tecnología farmacéutica que se ocupa de los aspectos del diseño, de la elaboración y evaluación de las formas de dosificación de los medicamentos, ha sido necesario adaptar los principios activos a una forma farmacéutica con características adecuadas para su administración y correcta dosificación, manteniendo sus compuestos químicos inalterados durante su conservación en condiciones específicas y garantizando una respuesta terapéutica satisfactoria.

Para la administración oral existe preparaciones oficiales con vehículo no acuoso, por ejemplo los elixires son preparaciones hidroalcohólicas, edulcoradas y aromatizadas que mejoran su aspectos y aumentan su palatabilidad, que pueden contener o no un principio activos, ya que son más capaces que los jarabes de mantener en disolución sustancias hidrosoluble y alcoholsoluble. (USP, 2007, p.1151). De modo que son los más usados debido a su sabor agradable, mayor estabilidad y fácil preparación. (Vila, J. et al., 2001, p.44).

Acerca de las diversas especies de *Passiflora* se ha comprobado su acción farmacológica en el tratamiento de la ansiedad y depresión. Estudios fitoquímicos realizados por (Pinduisaca, 2016, p.54) en extracto de hojas de *Passiflora mixta* demuestran la presencia de compuestos glucósidos como *vitexina 1-ramnósido*, *isovitexina*, *isovitexina 2-O-ramnósido* y *orientina*.

De acuerdo con investigaciones realizadas por (Guamán, 2017, p. 68), identificó flavonoides glucósilados, obteniendo óptimos resultados sobre la actividad ansiolítica con el extracto de *Passiflora mixta* y observó que a dosis de 200 mg/kg provocó sobre los animales de

experimentación una actividad ansiolítica, no habiendo alteración en la actividad motora, según estudio de (Estrada et al., 2012, pp. 379-380) demostró que la flavona crisina y apigenina y el núcleo de la flavona en sí mismo actúa sobre el sistema nervioso central (SNC) provocando el efecto ansiolítico.

Investigaciones realizadas por (Román, 2017, p 52) concluyen que a partir de los resultados histopatológicos, ensayos químicos sanguínea y hematológico, no existe toxicidad aguda en la administración del extracto de *Passiflora mixta* a dosis de 300 y 2000 mg/Kg en los animales de experimentación.

De acuerdo con los estudios anteriores y siguiendo esta línea de investigación, se propone realizar una formulación magistral que mantenga estable los compuestos bioactivos siguiendo con los requisitos expuestos en la Farmacopea.

La presente investigación tiene como objetivo obtener el extracto hidroalcohólico de *Passiflora mixta* por percolación, a la cual se le realizará una estabilidad a condiciones extremas, a través de procesos cromatográficos y espectrofotómetros permite identificar y cuantificar los compuestos flavónicos presente en el extracto, permitiendo generar información útil para una dosificación efectiva, se realizó las pre formulaciones de elixires a pH 4, 5, y 6 , aplicando condiciones de calidad se determinará cual es la mejor formulación .

La metodología utilizada en la investigación será cualitativa y cuantitativa; cualitativa porque se determinará las características organolépticas y principios activos, cuantitativa porque se realizará los análisis físico, químicos y microbiológicos de la forma farmacéutica. El tipo de investigación fue experimental puro porque se identificó los principios activos de la *Passiflora mixta* y cuasi experimental porque se elaboró una forma farmacéutica. Dentro de los no experimentales, fue el diseño transversal porque recolectó la información con respecto de los principios activos y excipientes.

## **CAPITULO I**

### **1. MARCO TEORICO**

#### **1.1. Bases teóricas**

##### **1.1.1. *Salud mental***

Se considera que la salud mental va más allá que la ausencia de trastornos o discapacidad mentales, formando parte integral y esencial de la salud, es así que no hay salud sin salud mental y está determina por múltiples factores socioeconómicos, biológicos y medioambientales. (Salud, 2013, p.14)

La Constitución de la OMS dice: «La salud es un estado de completo bienestar físico, mental y social, y no solamente la ausencia de afecciones o enfermedades.» (OMS, 2013, p 7)

##### **1.1.2. *Ansiedad***

La ansiedad es un mecanismo defensivo y puede ser definida como una respuesta del organismo, ante situaciones consideradas amenazantes o peligro físico o psíquico. La ansiedad adaptativa es buena, funcional, normal, no representa ningún problema de salud y se pone en alerta ante estímulos o situaciones que son potencialmente agresoras o amenazantes.(Herrero y Cano, 2010, pp-53-56)

Sin embargo, en algunos casos, este mecanismo funciona de forma alterada, es decir, produce problemas de salud y, en lugar de ayudarnos, nos incapacita. Existen factores que altera a este mecanismo normal y saludable. (Rodriguez et al., 2008, p.46)

Esto sucede cuando la ansiedad se torna en clínica en las siguientes situaciones: cuando el estímulo presentado es inofensivo y conlleva una compleja respuesta de alerta; la ansiedad persiste en el tiempo, supera el mecanismo adaptativo y los niveles de alerta persisten; los niveles de alerta y la ansiedad interfieren en el rendimiento del individuo y las relaciones sociales. (Rodriguez et al., 2008, p.46)

La ansiedad adaptativa y la ansiedad clínica presentan relación porque tiene la misma fenomenología; cogniciones, neurofisiología y respuesta motoras de defensa o ataque. (Rodríguez et al., 2008, p.46)

### Tratamiento para ansiedad

El tratamiento farmacológico a los pacientes con trastornos emocionales puede llevarse a cabo con el empleo de diferentes psicofármacos, con el objetivo de disminuir o aliviar los síntomas, prevenir las recaídas y evitar las secuelas, con la mayor tolerabilidad posible hacia la medicación. ( Navarrete, F- et al, 2013,pp. 2-3 )

**Tabla 1-1:** Fármacos más utilizados en el tratamiento de los diferentes tipos de ansiedad

Tipo de ansiedad	Fármaco
<b>1. Ansiedad generalizada</b>	Buspirona
<b>2.- Ansiedad relacionada con el estrés</b>	Diazepam Clordiazepóxido Clorazepato Oxazepam
<b>3. Crisis de pánico</b>	Alprazolam Antidepresivos tricíclicos Inhibidores de la MAO Clonazepam
<b>4. Fobias sociales</b>	Propranolol Inhibidores de la MAO
<b>5. Insomnio relacionado con el estrés</b>	Flurazepam Temazepam Triazolam

**Fuente:** (Navarrete, F. et al, 2013, p. 2752)

**Realizado por:** AUCAPIÑA, Angie, 2017

Estudios demuestran que dentro del grupo farmacológico de los ansiolíticos, los fármacos más utilizados son los barbitúricos y las benzodiacepinas. (Luna, M. et al., 2009)

#### 1.1.3. Benzodiacepinas

El principal grupo de agentes ansiolíticos es el de las benzodiazepinas (BDZ), estas sustancias se caracterizan por generar efectos sedantes e hipnóticos, anticonvulsivos de sedación, relajación muscular y disminución de la ansiedad, tiene su acción sobre el Sistema Nervioso Central. Las

benzodiazepinas causan intolerancia, lo que significa que con el tiempo se necesitará aumentar las dosis para alcanzar el mismo efecto, sin mencionar que estos medicamentos causan adicción pero son más seguras que los barbitúricos. (Navarrete, F- et al, 2013, p. 2751)

Este grupo se clasifica de acuerdo a su tiempo de acción a nivel del SNC, tenemos así benzodiazepinas de acción larga, media y corta.

**Tabla 2-1:** Vida media de las benzodiazepinas según tipo de acción

<b>TIPO DE BDZ</b>	<b>VIDA MEDIA</b>
<b>ACCIÓN LARGA</b>	24-60 Horas
<b>ACCIÓN MEDIA</b>	12-30 Horas
<b>ACCIÓN CORTA</b>	3-15 Horas

**Fuente:** (López, V. et al., 2010, p.559)

**Realizado por:** AUCAPIÑA, Angie, 2007

#### *1.1.3.1. Mecanismo de acción de Benzodiazepinas*

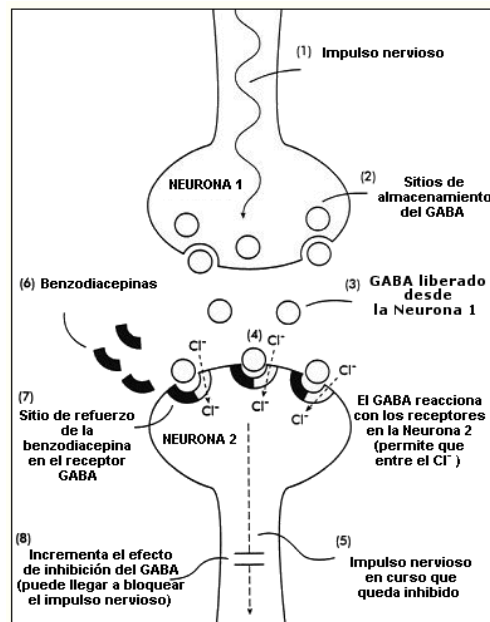
Las benzodiazepinas aumentan la actividad del GABA (ácido gama-aminobutírico), es un neurotransmisor que va a transmitir el mensaje de inhibición, es decir, que le comunica a otras neuronas con las que se pone en contacto que disminuya su velocidad o que deje de transmitir. Aproximadamente 40 millones de neuronas responde al GABA, de cierta forma es el tranquilizante e hipnótico natural que posee el ser humano. ( Gutiérrez, I. et al, 2013, p. 326)

En la sinapsis donde la vesícula sináptica libera el neurotransmisor GABA a través de un poro, este ejerce un efecto inhibitor en el SNC y se une con los (receptores GABA) de la membrana postsinápticos, permitiendo que se abra un canal, para el ingreso de partículas con carga negativas (ion de cloruro) a la neurona lo que inhibe la propagación del impulso nervioso ya que la membrana de la neurona se hiperpolariza.(Medel, J. et al., 2011, p. 44)

Esta señal inhibitoria finaliza cuando el GABA se libera del receptor y es recuperada por el botón de la neurona presináptica, donde es metabolizado o se vuelve almacenar en vesículas, los agonista del GABA como las benzodiazepina también reaccionan en sus propios sitios especiales (receptores benzodiazepínicos) que precisamente están ubicados en los receptores GABA, los

distintos subtipos de receptores benzodiazepínicos tiene una acción levemente distintos. ( Gutiérrez, I. et al, 2013, p.327)

El subtipos, (el alfa 1) es el responsable de los efectos sedativos, otro (el alfa 2) es el que ejerce efectos ansiolíticos, mientras que ambos, el alfa 1 y el alfa 2, como también el alfa 5, son los responsables de los efectos anticonvulsivos y estos provoca la entrada de cloro con iguales efectos postsinápticos y sin ambos tipos de moléculas coincide con la hendidura sináptica se unirá simultáneamente a los receptores de GABA que va a promover una mayor entrada de cloro a la neurona postsináptica incremento el efecto inhibitorio de este neurotransmisor, esta respuesta causada por las benzodiazepinas, disminuye la producción de norepinefrina (noradrenalina), serotonina, acetil-colina y dopamina. (Gutiérrez, I. et al, 2013, 327-328)



**Figura 1-1:** Mecanismo de acción del GABA y de la BDZ

Fuente: (Gutiérrez, I. 2013, p. 328)

### Efectos adversos y secundarios

La administración de benzodiazepinas produce efectos indeseables que incluyen: somnolencia, sedación, ataxia, confusión, astenia muscular, amnesia anterógrada, malestar estomacal, confusión, el ritmo cardíaco, temblor, debilidad, sueños inusuales o pesadillas, aparición de conducta agresiva, se presenta un estado inicial de nerviosismo antes de que el psicofármaco ejerza el efecto ansiolítico o sedante. (Vantour et al, 2010 pp. 561-562) (Capitán, L. et al, 2009, pp. 118-124)



La Benzodiacepina pueden provocar dependencia psicológica y física, provocando abstinencia tras la supresión del fármaco esto se da incluso a dosis bajas, que es más intenso mientras mayores hayan sido las dosis utilizadas y más prolongado el tiempo de tratamiento. (Vantour et al, 2010 pp. 561-562) (Capitán, L. et al, 2009, pp. 118-124)

#### **1.1.4. Barbitúricos**

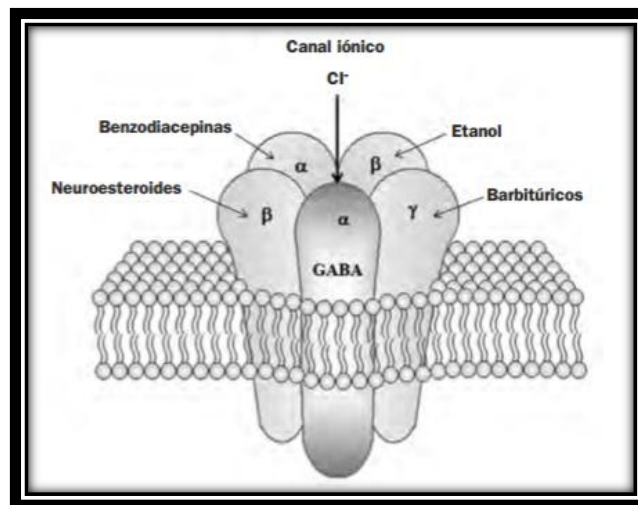
Los barbitúricos son psicofármacos sintéticos derivado del ácido barbitúrico obtenido por Bayer en 1863. El primer barbitúrico fue el barbital, y se ha desarrollado más de 2,500 barbitúricos y alrededor de una docena siguen siendo utilizados por la medicina. ( Munoz, F. et al, 2004, pp. 767-774)

Estos psicofármacos presentan un amplio espectro de depresión del Sistema nervioso central y puede provocar una sensación leve hasta llevar al individuo en coma y han sido utilizados como sedantes, hipnóticos, anestésicos, y anticonvulsivos. La principal característica es la rapidez con la cual producen el efecto y la duración por la cual persiste este efecto. ( Munoz, F. et al, 2004, pp. 767-774)

Los mismos se clasifican en acción ultra corta, corta, intermedia y prolongada. Los barbitúricos han sido reemplazados por las benzodiacepinas, en el tratamiento de la ansiedad y el insomnio, porque las BZP son mucho menos peligrosas en sobredosis, pero todavía se utilizan barbitúricos en la anestesia general, para la epilepsia y el suicidio asistido. ( Munoz, F. et al, 2004, pp. 767-774)

El hecho de que el efecto de los barbitúricos sea más intenso y menos selectivo que el de las benzodiacepinas es por que actúan también en otros niveles, como es antagonizando el efecto excitador del ácido glutámico en concentraciones más elevadas e interfiriendo con el transporte de  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Na}^{+}$  y  $\text{K}^{+}$ . ( Munoz, F et al, 2004, p. 775)

#### 1.1.4.1. Mecanismo de acción



**Figura 2-1:** Modelo estructural del receptor de GABA y sitio de unión a barbitúricos

Fuente: (Medel, J. et al., 2011. p. 44)

Por un lado se unen al receptor gamma-aminobutírico (GABA) produciendo la entrada del ión  $\text{Cl}^-$  que hiperpolariza la neurona bloqueando el impulso nervioso. Este efecto se produce tanto a nivel postsináptico como presináptico. Los barbitúricos producen la entrada de cloruro al unirse al complejo receptor GABA A-ionoforo e incrementando la duración de la apertura del ionoforo; la fase de la despolarización es inhibida por la acción de los barbitúricos y esto se consigue al potenciar y prolongar las acciones de GABA. (Pérez, J. et al, 2002, pp. 407-408)

Los barbitúricos estimulan los receptores GABA A directamente en ausencia del GABA, esto sucede en altas dosis. Los barbitúricos también bloquean los receptores de glutamato (neurotransmisor excitatorio) en el SNC. (Pérez, J et al, 2002, pp. 407-408)

#### 1.1.5. Dependencia a fármacos ansiolíticos

El consumo de ansiolíticos puede conllevar conductas violentas e ideas suicida, los efectos de los psicofármacos han provocado más de 500.000 muertes anuales y representa una de las principales causas de muerte que, se le ha clasificado como una epidemia silenciosa, lo que se le atribuye como un “crímenes contra la humanidad”. (Rafel, B. et al., 2007, pp. 256-257)

Sin embargo, un tratamiento prolongado con psicofármacos causa dependencia no sólo física, sino también psicológica. Esta dependencia puede desarrollarse a las dos primeras semanas después de uso prolongado. (Rafel, B. et al., 2007, p. 259). Pero la barrera que los pacientes atraviesa es

el síndrome de la abstinencia causan manifestaciones desagradables y son muy prolongadas. Por ejemplo irritabilidad, insomnio, fotofobia, parestesias, sudoración, palpitaciones y síndrome pseudogripal. (Méndez et al., 2009, p. 120)

#### **1.1.6. *La medicina tradicional***

La Medicina Tradicional ha desempeñado un papel importante en el tratamiento de diversas patologías, en la actualidad y a nivel mundial ha cobrado una importancia creciente, lo cual se ha evidenciado por su alto consumo. (Méndez, 2006, pp. 74-75)

Si bien los productos de origen vegetal, pasaron de ocupar un lugar preponderante a un segundo plano, en las últimas décadas han vuelto a alcanzar una presencia cada vez mayor y ha sido propiciado por el retorno hacia lo natural, pero también debido al desarrollo científico de los fitomedicamentos y al mayor conocimiento del riesgo-beneficio de los fármacos sintéticos. (Méndez, 2006, p.76)

#### **1.1.7. *La fitoterapia***

Constituye una de las terapias más antiguas y practicadas que existen, consiste en el uso de plantas medicinales con fines curativos. En la actualidad se han desarrollado fármacos que previenen, tratan o curan distintos tipos de enfermedades, los cuales son derivados de plantas medicinales. El consumo de fitofármacos no siempre se considerara seguro, puesto que varios tipos de plantas presentan principios activos que a dosis altas o bajas podrían ser tóxicos para el ser humano. (Avello et al, 2010, pp. 34-35)

Es importante realizar un estudio previo de las propiedades y beneficios que otorga la planta que vamos a usar en nuestro preparado, tomando en cuenta la dosis correcta de extracto o la cantidad de planta que vamos a usar, para obtener los mejores resultados en el tratamiento del problema de salud, evitando así generar toxicidad que pueda afectar a la salud del paciente. (Avello et al, 2010. p. 36)

La OMS define dichos conceptos:

**1. Planta medicinal:** Son aquellas que contienen en sus distintos órganos sustancias o principios activos que van a ejercer una acción terapéutica o que son precursores en la semi-síntesis químico - farmacéutica. (OMS, 2013)

**2. Fitofármaco:** Se desarrolla a partir de un extracto estandarizado, dependiendo del compuesto activo, dándonos como resultado productos farmacológicamente activos, que demuestren calidad, seguridad y eficacia. (OMS, 2013)

**3. Principios activos:** Son sustancias de origen vegetal que ejercen la acción farmacológica, los fitofármacos y principios activos aislados de las plantas, deberán ser convenientemente preparados con una forma farmacéutica adecuada para la administración y no deberán afectar su acción para el cual están destinados. (OMS, 2013)

#### **1.1.8. *Passiflora***

La *Passiflora* es el género más representativo de la familia Passifloraceae y existe alrededor de 18 género y 630 spp Se distribuyen en las regiones templadas y tropicales, desde el nivel del mar hasta altitudes superiores a 3 000 m sobre el nivel del mar (m.s.n.m.) (Pabón, L. et al., 2011, pp. 355-356); pero la mayor riqueza en especies se encuentra en las regiones moderadamente cálidas y templadas, entre 400 y 2 000 m s.n.m. Son enredaderas herbáceas o leñosas, trepadoras con zarcillos axilares. (Chiapero et al., 2013, pp. 103-105).

#### **1.1.9. *Composición fitoquímica***

La pasiflora contiene trazas de alcaloides indólicos como harmano, harmol y harmina, flavonoides en su mayoría son di-C-heterósidos de flavonas (escaftósido, isoescaftósido) y O-glucósidos en 2'' de isovitexina e isoorientina, además de isovitexina e isoorientina, se encuentran vitexina, orientina, vicenina, vicenina-2, etc., y flavonas y flavonoles como apigenina, luteolina, quercetol y kenferol (Carvajal et al., 2014, pp. 10-11).

Contiene además maltol, etilmaltol, ácidos grasos, ácidos fenólicos, cumarinas, fitosteroles y trazas de aceite esencial. Algunas especies del género *Passiflora* contienen heterósidos cianógenos (ginocardina). (Madrial, J. et al, 2000, p. 321)

### 1.1.10. Especie de *Passiflora*

**Tabla 3-1:** Composición de varias especies de *Passifloras*

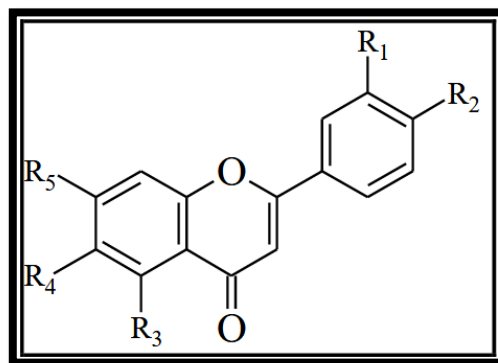
Especie	Composición
<i>Passiflora alata</i>	C-glicosil flavonoides 2-xilosilvitexina y pequeñas cantidades de vitexina, isovitexina y orientina
<i>Passiflora quadrangularis</i>	Passiflorina, Triterpeneglycosidoquadrangulosido, ácido oleanólico-3-fosforoso Monoterpenoides
<i>Passiflora edulis</i>	Luteolina-6-C-chinovosido, luteolina-6-C-fucoside, Fenoles como 4-Hydroxy- $\beta$ -ionol, 4-oxo- $\beta$ -ionol, 4-hydroxy-7,8-dihydro- $\alpha$ -ionol.
<i>Passiflora incarnata</i>	Apigenina, luteolina, quercetina, kaempferol; además de C-glicosil flavonoides como vitexina, isovitexina, orientina, isoorientina, schaftosido, isoschaftosido, isovitexina -2-O-glucopiranosido, isoorientina-2-O-glucopiranosido.

Realizado por: AUCAPIÑA, Angie 2017

Fuente: (Chabariberi et al., 2009, pp. 862-869)

### 1.1.11. Flavonoides representativos en el género de la *Passiflora*

#### 1.1.11.1. Flavona



**Figura 3-1:** Estructura de la Flavona

Fuente: (Davies y Yáñez, 2003, p. 6)

**Tabla 4-1:** Ejemplo de Flavona

Nombre	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>
<b>Crisina</b>			OH		OH
<b>Apigenina</b>		OH	OH		OH
<b>Luteolina</b>	OH	OH	OH		OH

Realizado por: AUCAPIÑA, Angie, 2017

Fuente: (Markham y Andersen, 2006, p. 329)

La crisina y apigenina, estos metabolitos secundarios presentaron en modelos in vitro una alta y mediana afinidad por el sitio de unión a BDZ. Estas flavonas en sí mismo presenta actividad ansiolítica, escasa actividad sedante y miorrelajante, lo cual representó la primera ventaja de estos metabolitos sobre las BDZ. (Estrada et al, 2012, p. 379)

#### **Apigenina:**

La apigenina (4', 5, 7,-trihidroxiflavona) presente en abundancia en frutas y verduras, posee notables propiedades antiinflamatorias, antioxidantes y anticancerígenas, reduce la probabilidad de padecer determinados tipo de cáncer, trastornos cardiológicos y neurológicos. (Ramírez *et al*, 2013, p.21). Induce la muerte apoptótica/necrótica celular; suprime la actividad de la quinasa CK2. (Andersen y Markham, 2006. p 851)

#### **Luteolina:**

Previene el daño oxidativo, se ha demostrado que reduce la producción de mediadores pro inflamatorios en macrófagos estimulados con LPS, fibroblastos y células epiteliales intestinales. La luteolina es una flavona importante en el grupo de los flavonoides (Ramírez et al, 2015, p.10).

Presentan un efecto quimioprotector contra tumores sin efectos secundarios según los estudios realizados por (Samejima *et al.*, 1995, pp.410-414), por su alta eficiencia de atrapar radicales libres son considerados potenciales antioxidantes, a su vez protege a las células del estrés oxidativo (Molina-Quijada, *et al.*, 2010, pp. 57-63).

#### **Crisina:**

Es un flavonoide natural, se ha informado que poseen múltiples actividades biológicas, incluyendo anti-inflamación, anti-oxidación y anti-proliferación. (Yao, J. et al., 2016, pp. 24-31) Actúa como un agente terapéutico para el tratamiento de la hiperamonemia y neuroinflamación mediada. (Renuka, M. et al, 2016, pp. 346-347)

**Vitexina:**

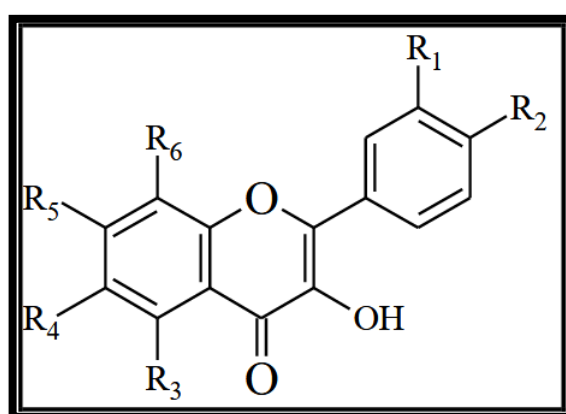
Vitexina o (5, 7, 4-trihidroxi-6-glucósido) es una flavona c-glicosilada que característico de la *Passiflora* sp, poseen un sin número de propiedades farmacológicas antinociceptivo, antiespasmódico, antioxidante, antimieloperoxidasa, y protege al corazón contra lesión por isquemia. (Abbasi et al, 2012, pp. 274-278)

**Isovitexina:** Es un glucósido de la flavona, apigenina- 6-C-glucósido, poseen un efecto neuroprotector

**Orientina:** Es un glucósido de la flavona, y lo denomina también como 8-C -glucósido de luteolina

**Isoorientina:** Es un glucósido de la flavona, se le conoce también como la luteolina -6-C-glucósido. (Abbasi et al., 2012. 274-278)

#### 1.1.11.2. Flavanol



**Figura 4-1:** Estructura de Flavanol

**Fuente:** (Davies y Yáñez, 2003, p. 6)

**Tabla 5-1:** Ejemplo de flavonoles

Nombre	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>
<b>Quercetina</b>			OH		OH

**Realizado por:** AUCAPINÁ, Angie, 2017

**Fuente:** (Markham y Andersen, 2006, p. 331)

**Quercetina:**

El grupos 3- y 5-OH con función 4-oxo en los anillos A y C necesarios para ejercer el máximo potencial antioxidante, el flavonoide quercitina es el que mejor reúne los requisitos para ejercer

una efectiva función antioxidante, resulta ser 5 veces mayor al demostrado por las vitaminas E y C. Una de sus formas glicosiladas es la rutina (quercetina-3 rutinósido), ha demostrado tener actividad antidepresiva (Martínez, F. & González, J., 2002, p. 275)(Kumar et al., 2015, p 69)

#### 1.1.12. Taxo (*Passiflora mixta* var. *mixta*)



**Gráfico 1-1:** Taxo (*Passiflora mixta* var *mixta*)

Realizado por: AUCAPIÑA, Angie, 2017

**Tabla 6-1:** Clasificación Taxonómica

Clasificación taxonómica	
<b>Clase:</b>	Equisetopsida C. Agardh
<b>Subclase:</b>	Magnoliidae Novák ex Takht.
<b>Súper orden:</b>	Rosanae Takht.
<b>Orden:</b>	Malpighiales Juss. ex Bercht. & J. Presl
<b>Familia:</b>	Passifloraceae Juss. ex Roussel.
<b>Género:</b>	<i>Passiflora</i> L.
<b>Especie:</b>	<i>mixta</i> L.f.
<b>Nombre común:</b>	taxo de monte

Realizado por: AUCAPIÑA, Angie, 2017

Fuente: Pérez, J. et al, 2002. p. 408

### Origen y Distribución

*P. mixta* también denominada taxo de monte, curuba de monte o curuba de indio, es nativa de del continente Americano, se distribuye en zonas frías de los Andes de Sur, se produce en Colombia, Venezuela, Bolivia y Perú entre 1.700 m y 3.700 m de elevación. Es una trepadora con hojas



trilobadas y coriáceas. Se ha convertido en una de las frutas tropicales más apreciadas.(Deginani, N., 2001, p.100)

Esta especie posee una alta variabilidad genética, se ha encontrado una gran heterogeneidad de plantas y frutos en cuanto a su tamaño, color, forma, rendimiento, presentan una diferencia notable. (Lindberg, A. et al., 2001, p. 89)

**Tabla 7-1:** Principales caracteres cualitativos polimórficos de *Passiflora mixta*

Órgano	Características cualitativas	
<b>Tallo</b>	Forma exterior	Estriado/angulado
	Pubescencia	Glabro aterciopelado
<b>Estípulas</b>	Duración	Deciduas
<b>Pecíolo</b>	Pubescencia	Poco densa/terciopelado
<b>Hoja</b>	Pubescencia envés	Glabro/aterciopelado
	Pubescencia haz	Glabro a aterciopelado
<b>Bráctea</b>	Pubescencia	Glabro a aterciopelado
<b>Flor</b>	Forma de la copa	Campanulada
	Orientación	Semi-erecta (10-50°)
	Color ovario	Amarillo verdoso/kaki
	Color estilos	Rosado
	Distribución de color estilos	Uniforme/moteado
<b>Fruto</b>	Forma	Elipsoide/fusiforme
	Color	Amarillo verde
	Manchas de Antracnosis	Algunas medias

**Realizado por:** AUCAPIÑA, Angie, 2017

**Fuente:** (Primot, S. et al., 2005, p. 469)

### 1.1.13. *Propiedades Farmacológica*

Algunas propiedades de la *Passiflora mixta* con fines medicinales se emplean como sedante en el tratamiento del insomnio, nerviosismo, disminuir el estrés, diurético, la ansiedad, hipotensores, dolores de la cabeza, afecciones hepáticas y de riñón. ( Escamilla, J. et al, 2009, p. 355) (Tobergte et al., 2013. pp 1689-1699)

#### **1.1.14. Dosis efectiva**

En la investigación de (Navarro, S. & Aldana, A, 2014, pp 27-30) ha estudiado el efecto ansiolítico de los extractos acuoso e hidroalcohólico liofilizados y de algunos componentes aislados (alcaloides indólicos y maltol y flavonoides y maltol), vía oral en ratón. El extracto acuoso tiene efectos sedantes a dosis de 400 y 800 mg/kg, pues redujo la actividad locomotora. Por su parte, el extracto hidroalcohólico no manifestó efecto sedante, sino que incrementó la actividad locomotora, lo que sugiere un efecto ansiolítico a dosis de 400 mg/kg.

La *P. edulis* y *P. alata*, utilizadas en medicina popular como sedantes, tranquilizantes, ansiolíticas, analgésicas y diuréticas. Por ejemplo, el extracto hidroalcohólico de ambas especies ha demostrado actividad ansiolítica a las dosis de 50, 100, 150 y 200 mg/kg por vía oral. (Navarro, S. & Aldana, A, 2014, pp 27-30)

La dosis con mayor actividad ansiolítica del extracto liofilizado de *Passiflora .mixta* fue de 200 mg/kg, no presentado alteración en la actividad loco motora y en la memoria. (Guamán. 2016, p 68)

#### **1.1.15. Toxicidad**

En los resultados de la biometría no mostraron alteraciones significativas con respecto a los valores de basales, por tanto se comprueba a través de análisis patológicos, ausencia de cambios morfológicos y tóxicos en los órganos.

Investigaciones realizada por (Román, 2017, p 58) concluye que a partir de los resultados de histopatológicos, ensayos químicos sanguínea y hematológico, no existe toxicidad aguda en la administración del extracto de *Passiflora mixta* a dosis de 300 y 2000 mg/Kg. En los animales de experimentación.

Otros estudios realizados por (Chávez, 2017, p. 52) cuyos resultados muestra que no existe toxicidad aguda con el extracto de *Passifloras edulis* y *P. quadrangularis* a dosis de 300 y 2 000 mg/Kg.

#### **1.1.16. Formas Farmacéuticas**

Son preparaciones medicamentosas es decir, mezclan uno o más principios activos (fármaco) con excipiente o coadyuvantes y tiene como objetivo proteger al fármaco, facilitar su dosificación, conservación, administración y biodisponibilidad. A su vez, la forma farmacéutica debe proteger al principio activo de factores agresivos (luz, humedad, etc.), enmascarar sabores y olores desagradables y brindarle estabilidad, etc.(Vila , J. 2001, p. 15)

## **Clasificación de las Formas Farmacéuticas.**

Se han clasificado por su estado físico o la vía de administración:

### **a) Estado Físico:**

- Líquidos: suspensiones, jarabes, elixir, solución etc.
- Semisólidos: ungüentos, pomadas, cremas, supositorios, etc.
- Sólidos: tabletas, cápsulas, etc.

### **b) Vías de Administración:**

- Oral: tabletas, cápsulas, jarabes, suspensiones
- Parenteral: inyectables (suspensiones y soluciones)
- Implantes: Rectal, Vaginal y Uretral. Se presentan bajo la forma de óvulos, soluciones, cremas y supositorios.
- Tópica: (Dérmicas o superficiales): cremas, ungüentos, pomadas, lociones y aerosoles.
- Inhaladores: aspiradas por la nariz o la boca. (Vila, J. 2001, p. 16)

### **1.1.17. Elixires**

Los elixires son medicamentos hidroalcohólicos, límpidas y edulcoradas que contienen colorantes que mejoren su aspecto y aromas que aumentan su palatabilidad. El contenido en alcohol de los elixires por lo general no excede del 20% y excepcionalmente puede llegar al 50%, es una de las ventajas de estas formulaciones, hace que sea difícil su contaminación por su contenido de alcohol, por lo que no necesita la adición de agentes antimicrobianos para su conservación. Además se utilizan este tipo de forma farmacéutica para la administración de fármacos que son insolubles en agua sola, pero solubles en mezclas de agua y alcohol. (Vila, J. 2001, p. 46)

### **1.1.18. Ventajas y desventajas de los elixires**

#### **Ventajas**

- ✓ Mayor biodisponibilidad: mejor absorción y efecto terapéutico con mayor rapidez
- ✓ Menor efecto irritante en la mucosa gástrica
- ✓ Permiten una administración e ingesta más fácil.
- ✓ Mayor fiabilidad en la dosificación.

Desventajas

- ✓ Posible inestabilidad en disolución
- ✓ Mayor dificultad para manejo y almacenamiento
- ✓ Caracteres organolépticos más perceptibles(Vila, J. 2001, p.47)

#### **1.1.19. Características de los elixires**

- ✓ La concentración de alcohol en un elixir puede variar entre un 10 – 50 %.
- ✓ Son menos viscosos y menos dulces que los jarabes
- ✓ Los principios activos se disuelven generalmente en el alcohol (Vila, J. 2001, p.47)

#### **1.1.20. Excipientes**

Son sustancias auxiliares que ayudan a que el principio activo se formule de manera estable, eficaz y, sobre todo, seguras para el paciente. A continuación se va enumerar algunas de las funciones de los excipientes que se va a utilizar para formular un medicamento estable, seguro y eficaz.

##### **Agua purificada**

EL agua purificada se obtiene por destilación o por tratamiento con resinas de intercambio iónico. Se prepara a partir del agua potable de excelente calidad, debe quedar un residuo no mayor de 0,001 %, esto es 1 mg. de sólidos totales. Se emplea para la preparación de formas líquidas no parenterales. Farmacopea Argentina, (USP, 2007)

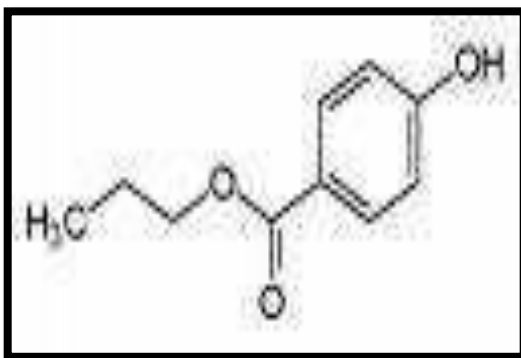
##### **Etanol**

El alcohol etílico, etanol o espíritu de vino rectificado, es después del agua, el disolvente de sustancias orgánicas de mayor importancia en farmacia. Con el agua forma una mezcla hidroalcohólica que disuelve las sustancias solubles tanto en agua como el alcohol. El alcohol de uso farmacéutico debe contener 94.9 a 96% de etanol v/v a 15,50° C. (USP, 2007)

##### **Sacarosa.**

La sacarosa provoca un aumento de la presión osmótica que impide el desarrollo fúngico y bacteriano esto sucede por el fenómeno de la osmosis que sustrae el agua contenida en el microorganismo y esto impide su desarrollo. (Roxe et al, 2009, p. 704)

## Propilparabeno



**Figura 5-1:** Fórmula estructural Propilparabeno

**Fuente:** (Roxe et al, 2009, p. 592)

**Sinónimos:** Propilparahi- Droxibenzoato, nipasol, protaben, paseptol, propil ester del ácido 4-hidroxibenzoico.

**Fórmula química:** HO-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-CO<sub>2</sub>C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>

Punto de inflamación °C: 180

**Masa molecular:** 180 g/

mol **Punto de fusión:** 95 -

98 **Punto de ebullición:** 130

**Nombre CAS:** 94-13-3

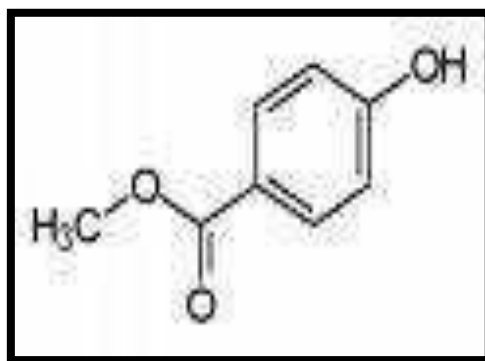
**Características organolépticas:** polvo cristalino blanco inodoro o con algún olor característico.

**Descripción:** Preservante, antimicrobiano

**Principal uso y/o aplicación:** Se utiliza como aditivo para preservar los productos en la Industria Farmacéutica, alimentaria veterinaria y cosmética. Para el tratamiento de aguas dosis usada y/o concentración: 0.02% junto Con metilparabeno al 0.18%.

**Características:** El propil parabeno es más eficaz que el metilparabeno en base a las ppm que se utilizan; para inhibir el crecimiento de las bacterias se necesitan hasta 1.000 ppm del propil parabeno. (Roxe et al, 2009, p. 592)

### Metil parabeno.



**Figura 6-1:** Fórmula estructural Metil parabeno

Fuente: (Roxe et al, 2009, p. 441)

**Nombre sistemático:** Metilparabeno Hidroxibenzoato

**Fórmula química:** HO-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>

**Masa molecular:** 152g/mol

**Punto de fusión:** 125 – 128 °C

**Características organolépticas:** polvo cristalino blanco, inodoro o con algún olor característico, giroscópico.

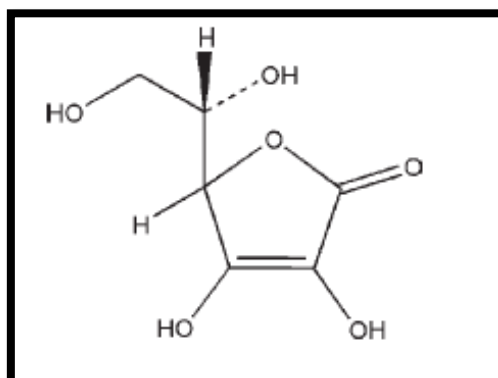
**Solubilidad:** soluble en agua, alcohol, éter.

**Descripción:** Preservante

**Principal uso y/o aplicación:** Se utiliza para preservar los productos en la industria farmacéutica, alimentaria y cosmética.

**Dosis usada y/o concentración:** de 1.000 a 4.000 ppm. (Roxe et al, 2009, p. 441)

### Ácido ascórbico



**Figura 7-1:** Formula estructural del Ácido ascórbico

Fuente: (Roxe et al, 2009, p. 43)

**Nombre sistemático:** 2,3-didehydro-L-threohexono-1,4-lactone

**Fórmula química:** C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>

**Masa molecular:** 176.13g/mol

**Punto de fusion:** 190 °C

**Características organolépticas:** blanco al polvo cristalino de color claro-amarillo, higroscópico, inodoro o cristales incoloros con un sabor picante, ácido. Poco a poco se oscurece cuando se expone a la luz.

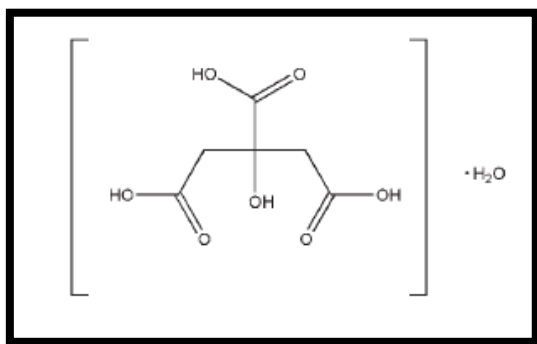
**Solubilidad:** etanol, éter, cloroformo, glicerina.

**Descripción:** Preservante

**Principal uso y/o aplicación:** Se utiliza para preservar los productos en la industria farmacéutica, alimentaria y cosmética.

**Dosis usada y/o concentración:** El ácido ascórbico se usa para un antioxidante en la industria farmacéutica acuosa formulaciones a una concentración de 0,01 a 0,1% w / v. ácido ascórbico. En elixir es 30mg/ 5mL. (Roxe et al, 2009, p. 43)

### Ácido cítrico



**Figura 8-1:** Fórmula estructural del Ácido cítrico monohidratado

**Fuente:** (Roxe et al, 2009, p. 181)

**Nombre sistemático:** Monohidrato de ácido 2-hidroxi-1,2,3-propanotricarboxílico

**Fórmula química:** C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub>·H<sub>2</sub>O

**Masa molecular:** 210.14g/mol

**Punto de fusion:** 100 °C

**Características organolépticas:** los cristales translúcidos sin color, o como un sólido cristalino blanco, polvo de eflorescencias. Es inodoro y tiene un fuerte sabor ácido. La estructura cristalina es ortorrómbica.

**Solubilidad:** etanol, éter, cloroformo, glicerina.

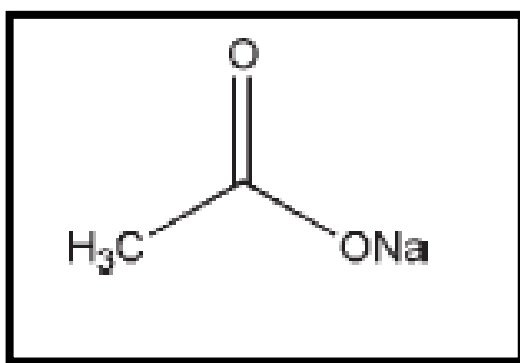
**Descripción:** Agente de acidificación conservante; antioxidante; agente tampón; agente quelante; potenciador del sabor; conservante.

**Densidad:** 1.542 g/cm<sup>3</sup>

**Principal uso y/o aplicación:** Se utiliza para preservar los productos en la industria farmacéutica.

**Dosis usada y/o concentración:** para la formulación de elixir de utiliza 22.32 mg/mL. (Roxe et al, 2009, p. 181)

### Acetato de sodio



**Figura 9-1:** Fórmula estructural Acetato de sodio

**Fuente:** (Roxe et al, 2009, p. 620)

**Nombre sistemático:** Acetato de sodio anhidro

**Fórmula química:** C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>NaO<sub>2</sub>

**Masa molecular:** 82.0 g/mol

**Punto de fusión:** 100 °C

**Características organolépticas:** los cristales translúcidos sin color, o como un sólido cristalino blanco, polvo de eflorescencias. Es inodoro y tiene un fuerte sabor ácido. La estructura cristalina es ortorrómbica.

**Solubilidad:** etanol, éter, cloroformo, glicerina.

**Descripción:**

Agente de acidificación conservante; antioxidante; agente tampón; agente quelante; potenciador del sabor; conservante.

**Densidad:** 1.542 g/cm<sup>3</sup>

**Principal uso y/o aplicación:** Se utiliza para preservar los productos en la industria farmacéutica.

**Dosis usada y/o concentración:** para la formulación del elixir la concentración permitida es de 8mg/ 5 mL.



**Colorantes.**

Estas sustancias se le añaden a la forma farmacéuticas para dotarle de un color y a su vez conseguir un mejor aspecto.

**Edulcorantes o saborizantes.**

Ayuda a enmascarar sabores desagradables que tiene algunos fármacos y así mejor su palatabilidad. (Roxe et al, 2009, p. 620)

**1.1.21. Control de calidad**

Es importante incorporar al proceso de elaboración normas que disminuyan el riesgo de errores en la elaboración de medicamentos, además de los controles de calidad básicos, ya mencionados, para garantizar la obtención de un producto final con la calidad. (Torres *et al.*, 2007, p.4)

**1.1.22. Estudio de estabilidad al extracto**

Las plantas representan un arsenal valioso para el tratamiento de enfermedades, de acuerdo a estudios anteriores se determina que los extractos acuosos se degradan rápidamente y no se conoce la estabilidad de los extractos etanólicos. Por lo que se propone evaluar la estabilidad físico-química de extractos etanólicos de origen vegetal que representan un efecto terapéutico favorecedor a la salud. (Hernández et al., 2010, pp. 22-26)

Para la determinación de la estabilidad físicoquímica de los extractos se evaluaron las siguientes variables: se valoró el comportamiento de las muestras ante el calor, la luz, pH extremos. Se realiza tal estudio de estabilidad acelerado para demostrar el comportamiento de las muestras a medida de que aumenta el tiempo de exposición antes estas condiciones y de esta manera nos proporcionara información sobre las variaciones importantes que sufrió el producto para que se pueda preservar en condiciones adecuadas. (Rodríguez et al, 2003, pp. 125-132)

**1.1.23. Estudios de Estabilidad**

Es el tiempo durante el cual un producto mantiene dentro de unos límites específicos y a través del período de almacenamiento, las mismas propiedades y características físicas, químicas, microbiológicas y biológicas, que poseía en el momento de su fabricación. (Arcos, C, 2017, p. 205)

#### **1.1.24. *Motivos por los que se realiza un estudio de estabilidad.***

- ✓ **Razones legales.-** Este es un requisito o norma establecido por las autoridades de salud para establecer el periodo de vida útil del producto farmacéutico. (Fernández et al, 2013, p 351)
- ✓ **Razón sanitaria.-** Es prioritario realizar este estudio, porque los productos de degradación del principio activo-excipientes no siempre suelen ser seguros o inocuos. (Fernández et al, 2013, p 351)
- ✓ **Razones económicas.-** Si el producto sufre degradaciones físicas que afecten su presentación comercial, este ya no es aceptado por parte del paciente consumidor. (Fernández et al, 2013, p 351)

#### **1.1.25. *Inestabilidad de medicamentos***

La inestabilidad de un medicamento se ve afectada cuando se alteran las características físicas, químicas y microbiológicas. (Paladino, M. et al., 2009, p. 314)

##### ✓ **La inestabilidad física**

Puede producirse modificaciones físicas que suelen ser apreciables a simple vista, causando la separación de fases. (Paladino, M. et al., 2009, p. 314)

##### ✓ **La inestabilidad química**

Los principios activos o excipientes en solución son más susceptibles a sufrir procesos de hidrólisis, oxidación y reducción, dando como resultado sustancias que no presentan acción farmacológica y se reduce su estabilidad. El pH afecta a menudo en este tipo de reacciones. Estas reacciones químicas también se ven favorecidas por el aumento de la temperatura. (Paladino, M. et al., 2009, p. 314)

##### ✓ **La inestabilidad microbiológica**

El desarrollo de microorganismos libera sustancias tóxicas provocando problemas en la eficacia terapéutica, farmacéutica y propiedades organolépticas, como también puede alterar el pH, afectando la solubilidad del principio activo en el preparado. (Paladino, M. et al., 2009, p. 315)

### **1.1.26. Causas de inestabilidad de medicamentos**

Entre los principales factores que hace que un medicamento se vuelva inestable son las siguientes:

- ✓ Temperatura.- Esta es una de las principales causas de alteración del medicamento ya que las reacciones de degradación del medicamento se incrementan al aumentar la temperatura.
- ✓ Humedad.- Puede afectar tanto en la formulación del medicamento, ejemplo humedad en materia prima, excipiente, dando como consecuencia es una reacción de hidrólisis.
- ✓ Oxígeno y otros gases.- Cuando el oxígeno el cual está en contacto con el fármaco principio activo, puede causar degradación de los compuestos de la formulación a partir de reacciones de oxidación, el CO<sub>2</sub> en contacto con un medicamento puede causar alteraciones en el pH del mismo.
- ✓ Radiaciones.- Un principio activo expuesto a radiaciones produciendo productos de degradación los cuales puede catalizar otros procesos secundarios, como son oxidación, polimerización.
- ✓ Incompatibilidades.- Esto se produce cuando los componentes de la formulación provocan modificación de las propiedades físicas y químicas del producto.

### **1.1.27. Tipos de estudios de estabilidad**

- ✓ Estudios normales.- Estos estudios la muestra se somete a condiciones normales de temperatura y humedad de almacenamiento y se evalúa periódicamente la degradación del principio activo, sin embargo el gran inconveniente es el tiempo que demora el estudio. (Poveda et al, 2013, p. 175)
- ✓ Estudios acelerados.- Este tipo de estudios somete al producto a temperatura extremas de almacenamiento (Temperatura y humedad relativa), con el objetivo de acelerar degradación química y modificación física. (Poveda et al, 2013, p. 175)

## CAPITULO II

### 2. MARCO METODOLÓGICO

Se puede observar desde los procesos de obtención del extractos hidroalcohólico al 85% en dependencia a bases teóricas y su contenido de metabolitos secundarios seguido por la secuencia para el análisis farmacéuticas y fisicoquímica para la evaluación de extracto y la pre formulación de los elixires a pH 4, 5.6.

#### 2.1. Recolección del Materia vegetal

La planta *Passiflora mixta* (hojas) fue recolectada en la parroquia la Candelaria del cantón Penipe de la provincia de Chimborazo cuyas coordenadas.

GPS son: -1.53403, -78.51056

#### 2.2. Identificación botánica

La identificación de la muestra de *Passiflora mixta*, fue identificada por el Ing. Álvaro J. Pérez responsable del Herbario de Pontificie Universidad Católica del Ecuador.

#### 2.3. Lugar de investigación

El presente trabajo de investigación se llevara a cabo en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia en los Laboratorios de Productos Naturales.

## 2.4. Materiales, equipo y reactivos

### 2.4.1. *Materiales*

**Tabla 1-2:** Materiales usados en las diferentes pruebas

<b>MATERIAL</b>	<b>NÚMERO</b>
<b>CONTROL DE CALIDAD DEL MATERIAL VEGETAL</b>	
Cápsulas de porcelana	6
Pizeta	1
Reverbero	1
Pinzas para cápsulas	2
Vidrio reloj	3
<b>ELABORACIÓN DE EXTRACTO</b>	
Frascos de vidrio color ámbar	6
Embudo Büchner y Kitasato	2
Percolador	1
<b>SCREENING FITOQUÍMICO</b>	
Refrigerante de bolas	2
Balones esmerilados de 250mL	2
Pinzas universales	4
Mangueras	3
Reverbero	2
Embudos simples	2
Trípodes	1
Vasos de precipitación de 250mL	3
Tubos de ensayo	10
Gradilla	1
Pipeta de 5mL	1
Pipeta de 1mL	1
Pipeta de 10 mL	1
<b>CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA (TLC)</b>	
Cuba cromatográfica	1

Capilares	4
Aspersor	1
Embudo	1
<b>CUANTIFICACIÓN METABOLITOS SECUNDARIOS (ESPECTRO UV)</b>	
Vaso de 50mL	3
Balones aforados de 10mL	5
Balones aforados de 100mL	2
Probeta de 50mL	1
Probeta de 100mL	1
Tubos de vidrio	10
Celdas de cuarzo	2
Puntas azules de 1000uL	50
Puntas amarillas de 100uL	20

Realizado: AUCAPIÑA, Angie, 2017

#### 2.4.2. Equipos

**Tabla 2-2:** Equipos utilizados en los diferentes ensayos

ANÁLISIS	EQUIPOS
<b>Control de calidad materia prima y Tamizaje Fitoquímico</b>	Molino Arthur H. Thomas C.O, PHILA. PA, U.S.A
	Sonicador
	Estufa Memmert, Estufa redLINE
	Mufla OPTIC ivymen system
	Desecador
	Balanza analítica HDM ELQUITECNICA CIA. LTDA
<b>Cromatografía en capa fina (TLC)</b>	Vortex
	Cámara UV. ULRA- VIOLET PRODUCTSS INC.
<b>Extracción y cuantificación de fenoles y flavonoides totales (espectrofotómetro UV) y determinación de la actividad de antioxidante.</b>	Balanza analítica HDM ELQUITECNICA CIA. LTDA
	Refrigerador
	Espectrofotómetro Cole Parmer S- 2150.

	Cronómetro
	Rotavapor R110
	Vortex
	Micropipeta BOECO 1000UI
	Micropipeta BOECO 100uL

Realizada por: AUCAPINA, Angie, 2017

### 2.4.3. Reactivos

**Tabla 3-2:** Reactivos utilizados en los diferentes ensayos

ENSAYO	REACTIVO
<b>SCREENING FITOQUÍMICO</b>	Reactivo de Dragendorff
	Reactivo de Mayer
	Reactivo de Wagner
	Reactivo de Baljet
	Reactivo de Lieberman Buchard
	Reactivo para Catequinas
	Reactivo para resinas
	Reactivo de Fehling
	Reactivo de FeCl <sub>3</sub>
	Reactivo de Borntrager
	Reactivo de Shinoda
	Reactivo de Antocianidinas
	Cloruro férrico
	Magnesio metálico
	Cloruro de sodio (polvo)
	Ácido clorhídrico
<b>Cromatografía en capa fina (TLC)</b>	Placa cromatográfica de sílica gel
	Acetato de etilo
	Ácido acético glacial
	Ácido fórmico 88%
	Agua bidestilada
<b>Extracción y cuantificación de fenoles, flavonoides totales y determinación de la</b>	Soluciones de ácido gálico
	Acetato de etilo
	Metanol 98%
	Etanol 85%

<b>actividad antioxidante (espectrofotómetro UV)</b>	Agua bidestilada
	Nitrito de Sodio 5%
	Tricloruro de aluminio 10%
	Hidróxido de sodio 1M
	Soluciones madre de quercetina

Realizado por: AUCAPINA, Angie, 2017

## **2.5. Procedimiento de la muestra**

### **2.5.1. Secado y molienda**

Las partes usadas de la planta son las hojas, se desecó en una estufa de aire caliente de marca Memmert a una temperatura de 40°C durante tres días, cuando material vegetal llega una humedad menor de 12 % queda con un aspecto crujiente, se procede a triturar con un tamaño de particular menor a los 5 mm.

## **2.6. Control de calidad de la droga vegetal**

El control de calidad de la droga vegetal se realizó en base a métodos fisicoquímicos, ya que es de gran importancia para garantizar la seguridad y eficacia de la droga para su análisis posterior. Por consiguiente se determinará los siguientes análisis cuantitativos por triplicado:

### **2.6.1. Determinación de humedad**

La determinación de humedad se llevó a cabo mediante la metodología planteada en la Norma Ecuatoriana Fitoterápicos (1999); (USP 30, 2007 p.261)

### **2.6.2. Determinación de cenizas totales, solubles en agua e insolubles en ácidos**

Los siguientes análisis cuantitativos se realizaron de acuerdo con el método gravimétrico expuesto en la Norma Ecuatoriana Fitoterápicos (1999); (USP 30, 2007, p. 217)

### **2.6.3. Determinación de sustancia solubles**

Se realizó mediante el método gravimétrico, tomando como referencia la Norma Ecuatoriana Fitoterápicos (1999) (USP 30, 2007, p. 217)



## **2.7. Obtención del extracto Hidroalcohólico al 85% de *Passiflora mixta* var. *mixta***

La técnica que se utilizó para la obtención del extracto hidroalcohólico fue la percolación, se realizó una previa maceración de 24 horas, posteriormente se dejó en percolación durante 24 horas con fluido constante de alcohol al 85 %, una vez terminado el percolado se mezcló el fluido con el macerado, se concentró en un rotavapor hasta obtener el volumen mínimo de extracto, una vez concentrado se procedió a refrigerar por 12 horas para luego filtrar y por último se tuvo que almacenar el extracto en envases herméticos y protegidos de la luz para evitar alguna degradación de principios activos. (USP 30, 2007, p.231)

Tomando en consideración que para realizar las pre formulaciones, se determinó que se requiere 15 mL de extracto por cada 5 mL de elixir. La cantidad necesaria de hojas de *Passiflora mixta* fue de 1 kg. Tomando como referencia que la concentración del extracto hidroalcohólico es 1:1, es decir, de un kilo de planta, se obtendrá 1 litro de extracto, cantidad necesaria para el desarrollo las distintas fórmulas.

## **2.8. Control de calidad del extracto hidroalcohólico de *Passiflora mixta***

Para el control de calidad del extracto se realizó: pruebas organolépticas, densidad relativa, índice de refracción, pH, sólidos totales, según metodología recomendada en la (Farmacopea Argentina, 2009, p 160-230), (OMS, 2003).

**Determinación de las características organolépticas:** se analizó el aspecto, olor, color y sabor.

**Determinación del pH:** Por el método de potenciometría.

**Determinación de la densidad relativa:** por el método del picnómetro.

**Determinación del índice de refracción:** se utilizó el refractómetro de Abbé.

**Determinación de los sólidos totales:** se utilizó el método de la estufa de aire.

## **2.9. Tamizaje Fitoquímico**

El tamizaje fitoquímico permitió determinar cualitativamente los principales grupos químicos presentes en el extracto de *P. mixta* esto se lo realizó a partir de reacciones química mediante cambios de color o formación de precipitados, lo cual ayudó a determinar los metabolitos secundarios presente en el extracto (Carvajal et al, 2009, pp. 163-169)

## 2.10. Pre estabilidad del Extracto de *Passiflora mixta*

Los estudios degradativos se realizaron con el fin de conocer los principales procesos que pueden afectar al producto de interés, que forman parte de los estudios de pre formulación y advierten al tecnólogo sobre riesgos en la estabilidad química. De este modo, puede procederse a estudios de formulación que incluyan excipientes que eviten la degradación del principio activo y se cuenta con una mejor orientación para los estudios de estabilidad.

### Condiciones Degradativos:

Extracto de *Passiflora mixta*: muestra 1

- ✓ Degradación oxidativa (**muestra A**): se tomó 10 mL de la muestra 1 y se adicionó 10 mL de peróxido de hidrógeno 30 %.
- ✓ Hidrólisis alcalina (**muestra B**): se tomó 10 mL de la muestra 1 y se adicionó 10 mL de disolución de hidróxido de sodio 20 %.
- ✓ Hidrólisis ácida (**muestra C**): se tomó 10 mL de la muestra 1 y se adicionó 10 mL de disolución de ácido clorhídrico 20 %.
- ✓ Efecto de la luz (**muestra D**): se tomó 10 mL de la muestra 1 y se colocó en un recipiente de vidrio transparente. Exponer a la luz natural durante el día y mantener bajo luz de neón durante la noche.

### Desarrollo del estudio:

- ✓ Las muestras preparadas fueron llevadas a la estufa a  $80\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ . y se mantuvieron durante 7 días, se extrajo porciones en los días: 0, 3, 5 y 7 y se les realizó la CCD.

## 2.11. Cromatografía en capa delgada del extracto hidroalcohólico para la identificación de flavonoides

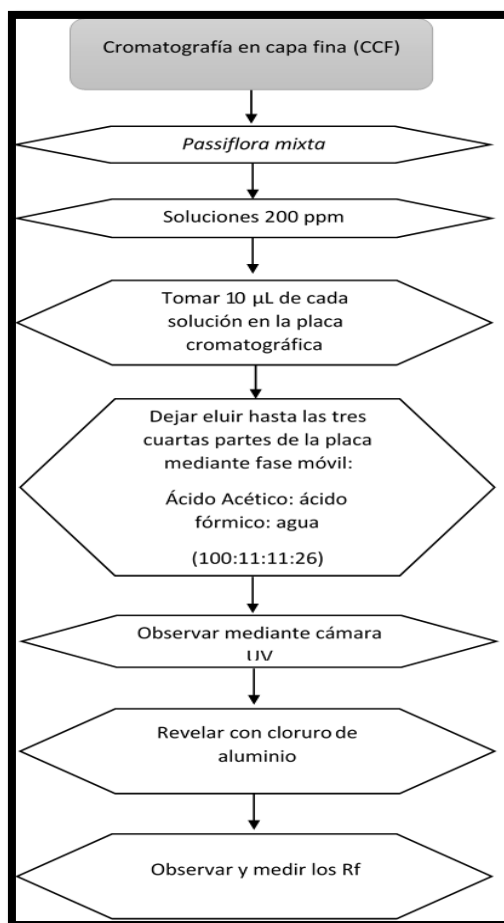
### Se analizó:

-Extracto hidroalcohólico, Extracto sometido a estabilidad

### Procedimiento:

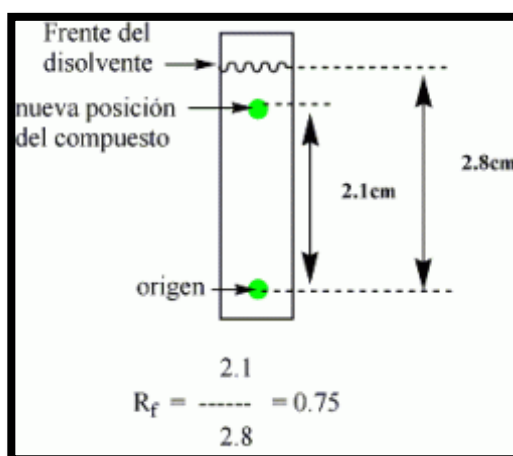
Se utilizó cromatofolio de sílica gel 60F254 (Merck) de 10 cm x 10 cm. Se aplicó 10 µL de la muestra a 1cm del borde inferior y a una distancia 1,5 cm entre cada muestra aplicada. Como fase móvil se usó acetato de etilo: ácido acético. Ácido fórmico: agua (100:11:11:26). Se dejó saturar la cámara cromatográfica, luego se colocó la placa cromatográfica en la cámara, hasta que la fase

móvil se mueva aproximadamente 8 cm del origen. La placa desarrollada se secó a temperatura ambiente y la placa se reveló con  $\text{AlCl}_3$  y se observó en la lámpara UV a 254 a 365nm de longitud de onda para medir el  $R_f$  y anotar los resultados. (Luma, W. et al, 2016,p. 42)



**Gráfico 1-2:** Flujo grama de cromatografía en capa fina (CCF)

Realizado por: AUCAPIÑA, Angie, 2017



**Figura 1-2:** Medición del  $R_f$

Fuente: (Casanova, 2015)

## 2.12. Cuantificación de flavonoides totales por espectrofotometría

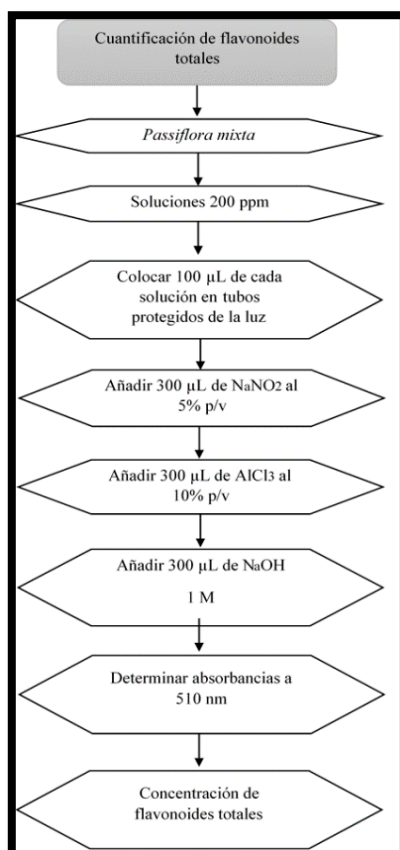
Para el extracto y producto final:

El contenido de flavonoides totales de los extractos se expresó como mg de equivalentes de quercetina por gramo (mg QE / g), a través de la curva de calibración de quercetina, a concentraciones de 20, 40 60 y 80 ppm, en metanol al 98%. (Chávez, 2016, pp. 49-50)

Como se observa en el Figura 6-2, se realizó una preparación de 200 ppm del extracto hidroalcohólico al 85 %. Se tomó 100µl de una solución hidroalcohólica de 200 ppm y se agregó 300µl de NaNO<sub>2</sub> p/v más 4mL de agua destilada, se homogenizó la muestra, dejándola en reposo durante 5 minutos, luego se agregó a la mezcla 300 mL de AlCl<sub>3</sub> al 10% p/v, se dejó en reposo por 5 minutos, después se agregó 2 mL de NaOH 1M, se dejó nuevamente en reposo por 5 minutos. Finalmente se colocó una porción de la muestra en la cuba del espectro y se procedió a la lectura a una longitud de onda de 510 nm.

Concentración de flavonoides totales expresados como mg de quercetina por gramos de extracto liofilizado

$$c = \frac{A-0,005}{0,001}$$



**Gráfico 2-2:** Flujo grama cuantificación de Flavonoides.

**Realizado por:** AUCAPIÑA, Angie 2017

### **2.13. Cuantificación de fenoles totales**

#### **Preparación de la curva**

Se cuantificó los fenoles totales mediante el método Folin-Ciocalteu, para ello se elaboró una curva de calibración del estándar (ácido gálico) a determinadas concentraciones: 20; 40; 60; 80 y 100 mg/L y se tomó la lectura en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 760 nm.

#### **Para el extracto:**

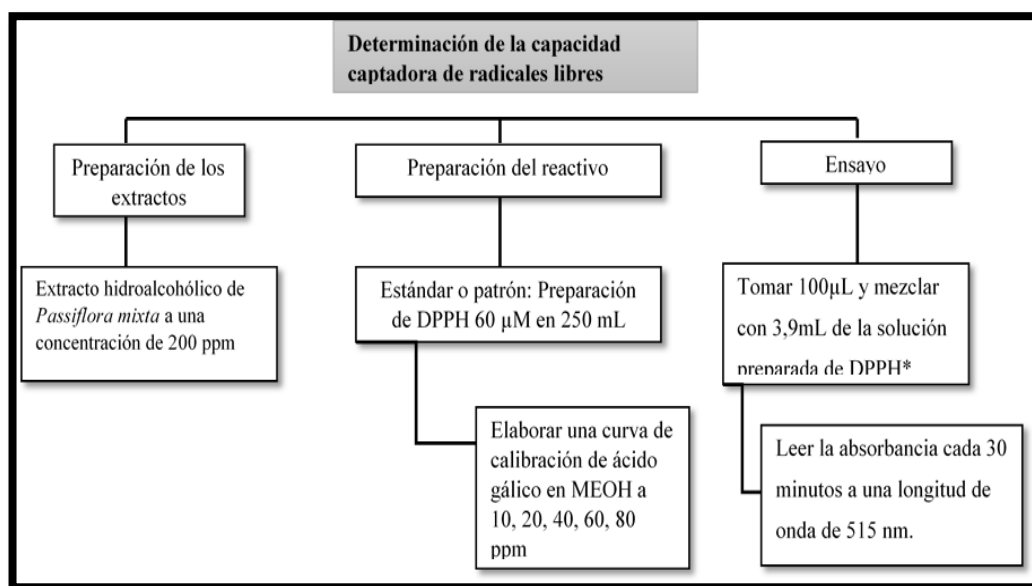
Se preparó soluciones de muestra a 200 ppm con solvente de alcohol al 85% se utilizó la metodología establecida para fenoles que se enuncian a continuación. Se colocó 2 ml solución muestra en un tubo de ensayo y se agregó 500 µl de Folin –Ciocalteu al 20%, se homogenizó y se dejó en reposo por 5 minutos. Luego se agregó 500 µl de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 20% más 5 ml de agua destilada, se agitó por un minuto, se dejó en reposo por 1 hora en la oscuridad y por último se procedió a la lectura en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 765 nm. (Rudnicki, M. et al, 2007, pp. 720-721) (Wootton, B. et al, 2011, 219-220)

### **2.14. Capacidad captadora de radicales libres in vitro. Método DPPH\***

#### **Para el extracto:**

El efecto de eliminación del radical DPPH\* se evaluó siguiendo el procedimiento descrito por Öztürk y colaboradores, con ligeras modificaciones. El estándar o patrón se realizó con ácido gálico a concentraciones de 10, 20, 40, 60, 80 y 100 ppm, la solución de DPPH\* se obtuvo a partir de la mezcla de 5,9mg del radical DPPH\* + 250mL de metanol al 98%, se preparó la muestra del extracto hidroalcohólico de *Passiflora mixta* a una concentración de 200 ppm.

Luego se procedió a realizar el siguiente ensayo: se tomó 100µL de la muestra (extracto hidroalcohólico de *Passiflora mixta* a una concentración de 200 ppm) o de la solución estándar y se mezcló con 3,9mL de DPPH\* en metanol (60 µm), después se agitó la mezcla con la ayuda de un vórtex, dejando en reposo por una hora protegido de la luz. (Wootton, B. et al., 2011, p. 219)



**Gráfico 3-2:** Esquema de la capacidad captadora de radicales libres

**Fuente:** (Wootton, B. et al., 2011, p. 219)

$$\% \text{ de Inhibición} = 100 * \frac{A_o - A_s}{A_o}$$

$A_o$ = Absorbancia del control negativo

$A_s$ = Absorbancia de la muestra

El valor de concentración del extracto que puede inhibir el 50% de los radicales DPPH ( $IC_{50}$ ), se calculó a partir de la ecuación del gráfico de dispersión lineal. Todas las pruebas fueron realizadas por triplicado (Caneschi, 2016, pp. 34-39).

## 2.15. Control calidad de los excipientes

Para el control de calidad de los excipientes utilizado en la Pre formulación del elixir, se realizó de acuerdo con la metodología (Farmacopea Británica, 2009, pp. 427-435), (Manual de excipientes farmacéutico, 2009).

**Tabla 4-2:** Excipientes utilizados en la elaboración de los elixires

Excipientes	Adquisición	Proveedor
<b>Metilparabeno</b>	Lab. Neo Fármaco	Resiquim S.A
<b>Ácido ascórbico</b>	Lab. Neo Fármaco	Resiquim S.A
<b>Ácido cítrico</b>	Lab. Neo Fármaco	Resiquim S.A
<b>Citrato de sodio</b>	Lab. Neo Fármaco	Quibeco
<b>Propilenglicol</b>	Lab. Neo Fármaco	Quibeco

<b>Propilparabeno</b>	Lab. Neo Fármaco	Resiquim S.A
<b>Sacarosa</b>		

Realizado por: AUCAPINA, Angie, 2017

### 2.15.1. *Alcohol Etílico (alcohol potable)*

**Descripción** -Líquido incoloro, claro transparente, móvil y volátil, hierve alrededor 78°C, olor característico y rápidamente inflamable.

**Solubilidad.**- Miscible con agua, éter y cloroformo.

**Identificación.**- Se mezcló 5 gotas de alcohol con 1 mL de una solución acuosa 1:10 permanganato de potasio y 5 gotas de solución 2 n de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Se produjo un intenso color azul sobre el papel filtro.

**Acidez o Alcalinidad.**- 20 mL de muestra no requiere más 0.2 mL de NaOH 0.1N para un color rosado con solución de fenolftaleína y no más de 0.1 mL HCl 0.1 N para dar un color rojo con solución de rojo metilo.

**Densidad específica.**- Entre 0.819 a 08139 a 20°C

**Grado alcohólico.**- Alcohólímetro de Gay Lussac. (Rowe, 2009)

### 2.15.2. *Propilenglicol*

**Descripción.**- Líquido incoloro, claro viscoso, sabor ligeramente acre.

**Solubilidad.**- Miscible con agua alcohol, disuelve a muchos aceites volátiles, no miscibles con aceites fijos.

**Acidez.**- No más de 0,2 mL de NAOH 0,1 N

**Densidad.**- Entre 1,035-1,037

**Cloruros.**- No más del 0,007 %

**Sulfato.**- No más del 0,006 % (Rowe, 2009)

### 2.15.3. *Propil parabeno sódico*

**Descripción.**- Polvo cristalino blanco, inodoro o con algún olor característico, higroscópico.

**Solubilidad.**- Soluble 1 en 1 de agua 1 en 5<sup>a</sup> de alcohol y 1 en 2 de alcohol al 50%

Prácticamente insoluble en aceites.

**Identificación.**- Se disolvió 0.5 g de muestra en 5 mL de agua y se acidifico con HCl y filtró el precipitado resultante.

**pH.**- Entre 9.6 y 10 .5 en una solución 1:100.

**Agua.**- No más que 5%.

**Cloruros.-** Una porción de 0.2g presenta no más cloruros que los presentes en 0.1 mL de HCl 0.02N (o.25%).

**Sulfatos.-** Una porción de 0.25g presenta no más sulfatos que los presente en 0.3 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.02N (0.12%) (Rowe, 2009).

**Valoración.-** Contiene no menos de 98.5 y no más de 101.5 % de C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>NaO<sub>3</sub>. (Rowe, 2009)

#### **2.15.4. Metilparabeno**

**Descripción.-** Polvo cristalino blanco, inodoro o con algún olor característico, higroscópico.

**Solubilidad.-** Soluble 1 g en 400 mL de agua en 3 mL de alcohol y 10 mL éter, soluble en glicerina, aceite y grasa, tetracloruro de carbono, benceno.

**Punto de fusión.-** Entre 125 – 128 °C.

**Identificación.-** En espectro infrarrojo absorbe a la misma longitud que la de referencia.

**Índice de acidez.-** El filtrado neutralizar y enfriado de la solución de 750 mg de muestra, al añadir NaOH 0.1N y 2 gotas de rojo de metilo. La solución es amarilla (Rowe, 2009).

#### **2.15.5. Ácido cítrico**

**Descripción.-** Cristales incoloros o translúcidos, o un polvo cristalino, eflorescente blanco. Es inodoro y tiene fuerte sabor ácido.

**Solubilidad.-** Etanol, éter, agua

**pH.-** Entre 2.2–2.5

**Acidez.-** No más de 0,2 mL de NaOH 0,1 N

**Perdido por secado.-** No más del 0,2 %

**Cloruros.-** No más del 0,007 %

**Sulfato.-** No más del 0,006 %

**Metales pesados.-** El límite <10 ppm (Rowe, 2009)

#### **2.15.6. Ácido ascórbico**

**Descripción.-** Blanco al polvo cristalino de color claro-amarillo, higroscópico, inodoro

**Solubilidad.-** Etanol, éter, cloroformo, glicerina.

**Identificación.-** Espectro IR de la muestra es comparable al St

**pH.-** Entre 2.2–2.5

**Acidez.-** No más de 0,2 mL de NaOH 0,1 N

**Perdido por secado.-** No más del 0,2 %

**Cloruros.-** No más del 0,007 %



**Sulfato.-** No más del 0,006 %

**Metales pesados.-** El límite <20 ppm. (Rowe, 2009)

#### 2.15.7. *Citrato sódico*

**Descripción.-** Cristales o un polvo cristalino blanco con un sabor refrigerante y salino. Es ligeramente deliquescente en aire húmedo, y en aire seco caliente es eflorescente.

**Solubilidad.-** Etanol, agua

**Identificación.-** Espectro IR de la muestra es comparable al St

**pH.-** Entre 7.5–8.5

**Acidez.-** No más de 0,2 mL de NaOH 0,1 N

**Perdido por secado.-** No más del 0,2 %

**Cloruros.-** ≤0,015 %

**Sulfato.-** ≤0.048%

**Metales pesados.-** El límite ≤10 ppm (Rowe, 2009).

#### 2.16. Pre formulación del elixir

A continuación se detalla el procedimiento de elaboración de los elixires para dotarlos de características fisicoquímicas. Se realizó la cuantificación de flavonoides totales, tomando en cuenta los cálculos y el volumen requerido del extracto concentrado para llevar a cabo las pre formulaciones.

A través de las pre formulaciones de los elixires se busca estandarizar la concentración de flavonoides que tiene el extracto hidroalcohólico de *Passiflora mixta*:

Pre formulación del elixir a pH4

**Tabla 5-2:** Pre formulación del elixir a pH4

<b>Pre formulación del elixir de extracto hidroalcohólico de Passiflora mixta a pH 4.</b>	
<b>Componentes</b>	<b>Cantidades</b>
Principio activo (extracto concentrado)	300 mL. Concentrado (65 mL)
Sacarosa 25 %	25 g
Alcohol 17 %	17 mL
Propilenglicol 10%	10mL
Conservante:	
➤ Nipagin	0.05g

➤ Nipasol	0.022g
Buffer	
➤ Ácido ascórbico	0.150g
➤ Ácido cítrico	0.100g
➤ Citrato de sodio	0.160g
Colorante	2 gotas (color característico)
Saborizante	2 gotas( sabor chocolate)
Agua destilada CSP 100mL	8 mL

Realizado por: AUCAPIÑA, Angie, 2017

### Pre formulación del elixir de extracto hidroalcohólico de *Passiflora mixta* a pH 5.

### Pre formulación del elixir a pH 5

**Tabla 6-2:** Pre formulación del elixir a pH 5

Pre formulación del elixir de extracto hidroalcohólico de <i>Passiflora mixta</i> a pH 5	
Componentes	Cantidades
Principio activo (extracto concentrado)	300 mL. Concentrado (65 mL)
Sacarosa 25 %	25 g
Alcohol 17 %	17 mL
Propilenglicol 10%	10mL
Conservante:	
➤ Nipagin	0.05g
➤ Nipasol	0.022g
Buffer	
➤ Ácido ascórbico	0.048g
➤ Ácido cítrico	0.048g
➤ Citrato de sodio	0.160g
Colorante	2 gotas (color característico)
Saborizante	2 gotas( sabor chocolate)
Agua destilada CSP 100mL	8 mL

Realizado por: AUCAPIÑA, Angie, 2017

## Pre formulación del elixir extracto hidroalcohólico de *Passiflora mixta* a pH 6.

**Tabla 7-2:** Pre formulación del elixir a pH 6

Pre formulación del elixir de extracto hidroalcohólico de <i>Passiflora mixta</i> a pH 6	
Componentes	Cantidades
Principio activo (extracto concentrado)	300 mL. Concentrado (65 mL)
Sacarosa 25 %	25 g
Alcohol 17 %	17 mL
Propilenglicol 10%	10mL
Conservante:	
➤ Nipagin	0.05g
➤ Nipasol	0.022g
Buffer	
➤ Ácido ascórbico	0.015 g
➤ Ácido cítrico	0.015 g
➤ Citrato de sodio	0.160g
Colorante	2 gotas (color característico)
Saborizante	2 gotas( sabor chocolate)
Agua destilada CSP 100mL	8 mL

Realizado por: AUCAPINA, Angie, 2017

### 2.16.1. *Proceso de preparación del elixir:*

#### Fase acuosa:

- ✓ Se mezcló los 65 mL de extracto concentrado + sacarosa 25%= (A) se mezcló y se agitó hasta conseguir la disolución completa.
- ✓ Se colocó en un vaso de precipitación la sustancia Buffer + 5 mL de agua purificada= (B) Se mezcló y se agitó hasta su completa dilución.
- ✓ Añadir la mezcla (B) en la (A)= (C) se mezcló y se agitó.

#### Fase alcohólica:

- ✓ En un vaso de precipitación de 50 mL se colocó los conservantes + 17 mL de alcohol= (D)
- ✓ Se añadió a la mezcla (D) los 10 mL de propilenglicol= (E) se mezcló y se agitó.
- ✓ Al final se mezcló la fase acuosa (C) sobre la fase alcohólica (E)= se mezcló y se agitó hasta tener una dilución completa, luego se agregó los 8 mL agua restante para completar el volumen de 100 mL.
- ✓ Finalmente se mezcló, filtró y envasó en frascos ámbar de vidrio.

### **2.16.2. Almacenamiento de las formulaciones**

Deben ser envasadas en frascos de color ámbar y mantenidos en lugares frescos y al abrigo de la luz.

### **2.17. Control de calidad del producto terminado**

Para el control de calidad de los elixires se analizó las siguientes propiedades físico-químicas: Pruebas organolépticas, densidad relativa, pH, control de pérdida de volumen, mediante la metodología recomendado en la (RFE, 2009).

### **2.18. Estabilidad acelerada**

Se realizó un estudio de estabilidad acelerada a los elixires tomando como referencia la estabilidad para productos naturales, sometidos a una temperatura de 45°C por 30 días, periodos de: 0, 7, 15 y 30 días, se evaluó las siguientes características según la metodología recomendada en la (RFE, 2009).

**Características organolépticas:** Aspecto, color, olor y sabor

**Controles físicos:** pH, densidad, control de volumen.

**Controles químicos:** se cuantificó los flavonoides totales. (USP 30, 2007, p.1379)

### **2.19. Control microbiológico del elixir.**

Culminado el estudio de estabilidad acelerada se realizó el análisis microbiológicos oficial para garantizar la calidad del producto terminado, tomando como referencia la metodología presentada en la (USP 30, 2017, p 102) para comparar con los límites establecidos.

✓ Recuento de Aerobios Mesófilos, Coliformes totales, Coliformes fecales (*E. coli*), Contaje de hongos y levaduras.

### **2.20 Análisis estadístico de datos**

El problema planteado se modelizó a través de un diseño factorial en cual se estudió el efecto que produce los dos factores sobre la variable de respuesta. Por tanto se investigó todas las posibles combinaciones de los niveles de factores

Se utilizó el análisis de ANOVA que muestra las filas de condiciones extremas, día y condiciones extremas\*Día, que corresponde a la variabilidad de los efectos de cada uno de los factores y la interacción entre ambos.

Para determinar qué condiciones extremas o día son significativamente diferente se utilizó el método Tukey, mediante el programa estadístico IBM SPSS STATISTICS 21, se analizó las variables de respuesta sobre diferentes factores fijos.

## CAPITULO III

### 3. MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

A partir de las metodologías antes mencionadas se presentarán los resultados y análisis realizados a las hojas de *Passiflora mixta*, al extracto hidroalcohólico y la Pre formulación del elixir a pH 4, 5, 6 y su discusión en base a datos bibliográficos.

#### 3.1 Control de calidad de la materia prima

**Tabla 1-3:** Control de calidad de la droga de la *Passiflora mixta*

PARAMETROS	HOJAS TAXO ( <i>Passiflora mixta</i> )	ESPECIFICACIONES (NEPT)	FARMACOPEA ESPAÑOLA 2002
Contenido de humedad (%)	9,32 ± 0,015	8 – 14 %	14%
Contenido de cenizas totales (%)	4,60 ± 0,036	Hasta 12 %	5%
Contenido de cenizas solubles en agua (%)	1,30 ± 0,030	Hasta 7 %	2%
Contenido de cenizas insolubles en ácido Clorhídrico	0,31 ± 0,035	Hasta 5 %	1%

Realizado por: AUCAPIÑA, Angie, 2017

Los resultados obtenidos en la Tabla 1-3, a partir de los métodos gravimétricos de las hojas de *Passiflora mixta*, tales como: la humedad, cenizas totales, cenizas solubles en agua, cenizas insolubles en ácido clorhídrico, necesarios para el control de calidad, determinaron que cumple con las especificaciones establecidas por la Norma Ecuatoriana de Fitoterápicos (NEPT) y, además se encuentra dentro de los límites permitidos por la Farmacopea española.

Por lo tanto se asume que la materia vegetal cumple con las normas de calidad, lo cual indica el correcto proceso de secado y almacenamiento, interpretando según los resultados reportados una menor cantidad de minerales, metales pesados, alcalinos, la cantidad de sílice descartando de esta

manera cualquier contaminante proveniente de la área de recolección y almacenamiento haciéndola idónea para el siguiente estudio.

### 3.2 Determinación de los parámetros de calidad del extracto fluido

**Tabla 2-3:** Resultado organolépticos del extracto de *Passiflora mixta*

PARÁMETRO	RESULTADO
Aspecto	Líquido verde oscuro
Color	Verde-Café
Olor	Floral, alcohólico
Sabor	Amargo

Realizado por: AUCAPIÑA, Angie, 2017

De acuerdo a la Tabla 2-3 los parámetros organolépticos de calidad del extracto de *Passiflora mixta* no tienen estándares de referencia con los que se puedan comparar, ya que estos extractos tienen sus propias características dependiendo de cada especie y la parte de la planta que se analizase.

### 3.3 Determinación de parámetros físicos químicos

**Tabla 3-3:** Resultado de los parámetros físicos-químicos del extracto fluido de *Passiflora mixta*

Parámetros	Resultado
pH	5,10
Índice de refracción	1.353
Densidad relativa (g/mL)	0.99
Sólidos totales (%)	1,60%

Realizado por: AUCAPIÑA, Angie, 2017

En la Tabla 3-3 se observa los resultados del estudio del extracto hidroalcohólico de *Passiflora mixta*, determinándose dentro de las especificaciones de la metodología OMS, pero cabe mencionar que son valores para extractos en general y no específicos para cada planta. La densidad relativa fue de 0.99 indica que el extracto es menos denso que el agua por ser su valor menor a 1. La determinación de sólidos totales fue de 1.60% valor obtenido se debe por la pérdida de sustancias volátiles por acción del calor.

## Análisis cualitativo

En el siguiente cuadro se exponen los resultados del tamizaje fitoquímico del extracto de *Passiflora mixta*

### 3.4 Tamizaje Fitoquímico del extracto hidroalcohólico 85% de *Passiflora mixta*

**Tabla 4-3:** Tamizaje Fitoquímico del extracto Hidroalcohólico de *Passiflora mixta*

ENSAYO	METABOLITO	EXTRACTO		
		ETÉREO	ALCÓHOLICO	ACUOSO
<b>Sudan</b>	Grasas	-	N/A	N/A
<b>Dragendorff</b>	Alcaloides	-	++	-
<b>Wagner</b>	Alcaloides	-	++	-
<b>Mayer</b>	Alcaloides	-	++	-
<b>Baljet</b>	Lactona y coumarina	++	++	N/A
<b>Liebermann – Burchard</b>	Triterpenos y Esteroides	+++	+++	N/A
<b>Catequinas</b>	Catequinas	N/A	-	N/A
<b>Resinas</b>	Resinas	N/A	++	N/A
<b>Fehling</b>	Azúcares reductores	N/A	+++	+
<b>Espuma</b>	Saponinas	N/A	-	++
<b>FeCl<sub>3</sub></b>	Compuestos fenólicos	N/A	+++	++
<b>Bornträger</b>	Quinonas	N/A	+++	N/A
<b>Shinoda</b>	Flavonoides	N/A	+++	++
<b>Antocianidina</b>	Antocianidina	N/A	+++	N/A
<b>Mucilagos</b>	Mucílagos	N/A	-	-
<b>Principios amargos</b>		N/A	N/A	+

Realizado por: AUCAPIÑA, Angie, 2017

+++ (Abundante); ++ (Moderado); + (escaso); N/A (No aplica)

De acuerdo Wosch, L. et al., (2017, pp. 40-49 ) la investigación con diferentes especies de *Passiflora* ha indicado composiciones químicas heterogéneas y puede influir la eficacia terapéutica. En la

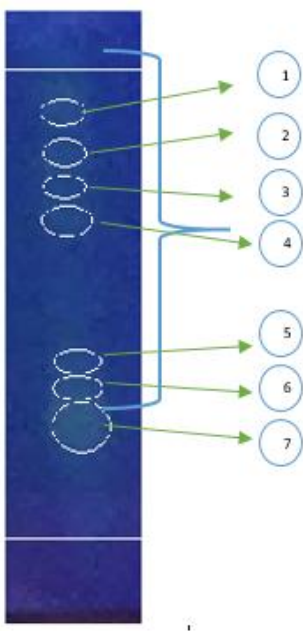


marcha fitoquímica realizada en la *Passiflora mixta* se obtuvo presencia altamente positiva de los compuestos fenólicos, flavonoides, triterpenos, presencia positiva de cumarinas y saponinas, presencia muy positiva de antocianidinas, mientras que alcaloides se reportó moderadamente positivo.

De acuerdo con el análisis fitoquímico desarrollado en las cuatro especies de *Passifloras* realizado por Carvajal et al., (2014, pp. 9-10), la *P. mixta* muestra resultados equivalentes con los reportados del análisis fitoquímico de gulupa *P. edulis* en tanto a compuestos fenólicos y flavonoides en hojas son altamente positivos, y se descarta la presencia de alcaloides, por lo cual podemos decir que la presencia de alcaloides depende en gran parte de la especie de *Passiflora*, en cuanto a las especie de *P. quadrangularis* y *P. maliformis* se obtuvo presencia de compuestos fenólicos y alcaloides, lo cual coincide con los resultados del tamizaje de *P. mixta*.

### 3.5 Cromatografía en capa fina del extracto hidroalcohólico de (*Passiflora mixta*) para Flavonoides

**Tabla 5-3:** Cromatografía en capa fina de la fracción flavónica glicosilada del extracto

Extracto hidroalcohólico 85 % ( <i>Passiflora mixta</i> )			Referencias bibliográficas. (Wagner , 2001)	
Hojas	Compuesto	Rf	Compuesto	Rf
	1	0,81	Schaftoside	0.80
	2	0,72	Isoramnetina-3-O-glucósido.	0.75
	3	0,65	Vitexina (apigenina-8-C-glucósido)	0.60
	4	0,54	Quercetina -3-glucósido	0,55
	5	0,3625	Vitexina- 2''-O-ramnósido	0,37
	6	0,30	Vitexina-2''-O-glucósido	0,30
	7	0,22	Isovitexina-2''-O-glucósido	0.20

Realizado por: AUCAPIÑA, Angie, 2017

- **Adsorbentes:** Sílica gel con fluorescencia indicador 254 nm, sílica gel
- **Fase móvil:** Acetato de etilo-ácido acético-ácido fórmico-agua 100:11:11:26
- **Revelador:** UV  $\lambda$  larga  $\lambda$  corta

De acuerdo con los Rf para el género de *Passiflora* encontrados por Wagner, 1996 se puede comparar en la Tabla 3-3 donde se observa la Cromatografía en capa fina para la posible presencia de glicósidos: Schaftoside, Isoramnetina-3-O-glucósido, Vitexina, Vitexina- 2''-O- ramnósido, Vitexina-2''-O- glucósido, Isovitexina-2''-O-glucósido en hoja, lo cual coincide con un estudio realizado por Qimin, L. et al., (1991, pp. 436-446) en hojas de *P. incarnata*, identificándose schaftoside, isoschaftoside, isovetexin-2 ''-O-glucopiranosido; el estudio realizado por Li et al., (2011, p. 1087) en los extractos de etanol de las partes aérea de *Passiflora edulis*, muestran actividad ansiolítica, los compuestos flavonoicos identificados en las hojas fue lucenin-2, Vitexina, isoorientina, Isoramnetina-3-O-glucósido, Isovitexina-2''-O-glucósido, los mismo que coinciden con los Rf identificados en la *P. mixta*, mediante la metodología utilizada para la identificación de flavonoides glicosiladas. (Wosch, L. et al., 2017) (Wagner et al., 1996, pp 230-231)

De acuerdo con (Carvajal et al., 2014, pp. 10-11) el estudio realizado en las hojas (*P. edulis* Sims) reportan que contiene un ingredientes activos nombrado crisina y apigenina, que se unen a los receptores de benzodiazepinas centrales (RBZDs) y podría producir efectos ansiolíticos sin alterar la memoria ó habilidades motoras.

Según el estudio de Tattini, M. et al., (2000, pp 69-77), los principales flavonoides glicosilados son la luteolina 7-O-glucósido y la quercetina 3-O-rutinoside, se encuentran en los productos de secreción de tricomas glandulares de *latifolia P.*, hojas expuestas a altos niveles de luz; a su vez Müller, S. et al., (2005, pp. 402-403) reportando una alta presencia de quercetina-3-O-glucósido únicamente en las hojas *P. alata* recolectadas en verano, de manera composición fitoquímica de las vegetales dependerá de los niveles de radiación solar.

Con respecto a Zucolotto, S. et al. (2011, pp. 237-238) realizó un estudio de identificación de flavonoides C- glicósidos por HPLC en las especies de *Passiflora*, y obtuvo la presencia de Vitexin-2''-Orhamnoside Isoorientin Orientin Isovitexin Vitexin, en las *P. edulis* var. *flavicarpa*, *P. alata*, *P. tripartita* var. *mollissima*, *P. manicata*, esta última mostró una alta presencia de estos compuestos en comparación con las demás especies de *Passiflora*.

### 3.6 Cuantificación de metabolitos secundarios

#### 3.6.1 Cuantificación de fenoles

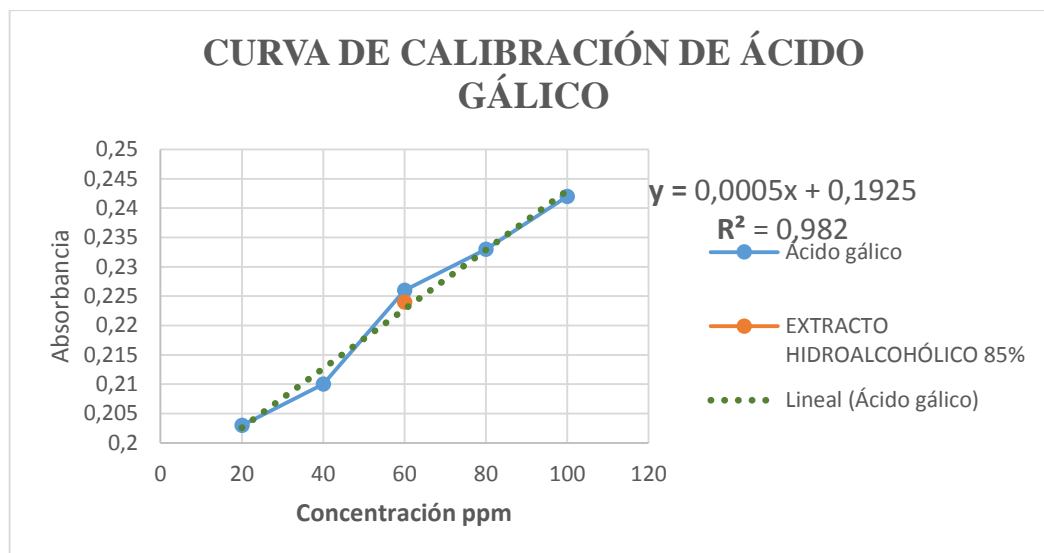
Para la cuantificación de fenoles en el extracto fluido de *Passiflora mixta*, se elaboró una curva de calibración con el ácido gálico como estándar y sus respectivas absorbancias establecidas por espectrofotometría a una lectura de 510 nm como se indica en la Tabla 6-3, mediante el método de Folin. Ciocalteu.

**Tabla 6-3:** Curva de calibración de ácido gálico por el método de Folin-Ciocalteu

CURVA DE CALIBRACION DE ÁCIDO GÁLICO	
Concentración ppm	Absorbancia
20	0,203
40	0,21
60	0,226
80	0,233
100	0,242

Realizado por: AUCAPÍÑA, Angie, 2017

El ensayo para la cuantificación de fenoles se realizó por triplicado, se desarrolló de forma directa utilizando una alícuota de 2 ml de la muestra 200 ppm con el propósito de que la absorbancia se encuentre dentro de los intervalos de la curva, los resultados se expresaron en mg/g de ácido gálico, se obtuvo la ecuación de la recta  $y = 0,0005x + 0,1925$  con un coeficiente de correlación  $R^2 = 0,982$ , que indica una buena linealidad lo cual nos permitió hacer una buena cuantificación de fenoles totales presente en la *Passiflora mixta* como se indica el **Gráfico 1-3**



**Gráfico 1-3:** Curva de calibración de Fenoles totales

Realizado por: AUCAPIÑA, Angie, 2017

**Tabla 7-3:** Resultados de la cuantificación de fenoles totales del extracto hidroalcohólico de *Passiflora mixta*

CUANTIFICACIÓN DE FENOLES TOTALES EXPRESADOS COMO ÁCIDO GÁLICO	
EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO 85	CONCENTRACIÓN
% DE <i>Passiflora mixta</i>	495 mg GA/ mL

Realizado por: AUCAPIÑA, Angie, 2017

En la Tabla 7-3, se observa que el extracto presenta 495 mg GA /mL de extracto hidroalcohólico de *P. mixta*. , en la investigación realizada por (Navarro, S. & Aldana, A, 2014, pp 27-30), los extractos de hojas de la especie *P. ligularis* presentaron mayor concentración de flavonoides y fenoles totales con el uso de solvente hidroalcohólico, determinándose por el método de Folin-Ciocalteu, indicando, que en las hojas existe mayor contenido de compuestos fenólicos más que en las flores; otro estudio realizado por Gomes, S. et al. (2017, pp 30-31), mediante extracción acelerada de solvente a temperatura 60 °C, utilizando el mismo método, el análisis demostró que el extracto etanólico 70 % de hojas *P. alata* contenía 494.44 mg GA /g, por lo que se asemeja con el resultado obtenido en la *P. mixta*. Según la investigación de (Vasić et al., 2012), la *P. alata* presenta una actividad ansiolítica en extracto hidroalcohólico de las hojas que en extracto acuoso.

### 3.6.2 Cuantificación de flavonoides

El ensayo para la cuantificación de flavonoides por espectrofotometría, se realizó por triplicado, cabe indicar que no fue necesario hacer diluciones del extracto hidroalcohólico 85% de *P. mixta* en metanol como se indica en la metodología realizado. La absorbancia se encuentre dentro de los intervalo de la curva de calibración, se obtuvo la ecuación de la recta  $y = 0,001x + 0,0015$  y con un coeficiente de correlación

$$R^2 = 0,9984.$$

**Tabla 8-3:** Resultados de la cuantificación de flavonoides totales del extracto fluido de *Passiflora mixta*

CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES TOTALES EXPRESADOS COMO QUERCETINA		
EXTRACTO	HIDROALCOHÓLICO	Concentración
85% DE <i>Passiflora mixta</i>		24,008 mg EQ/ mL extracto

Realizado por: AUCAPIÑA, Angie, 2017

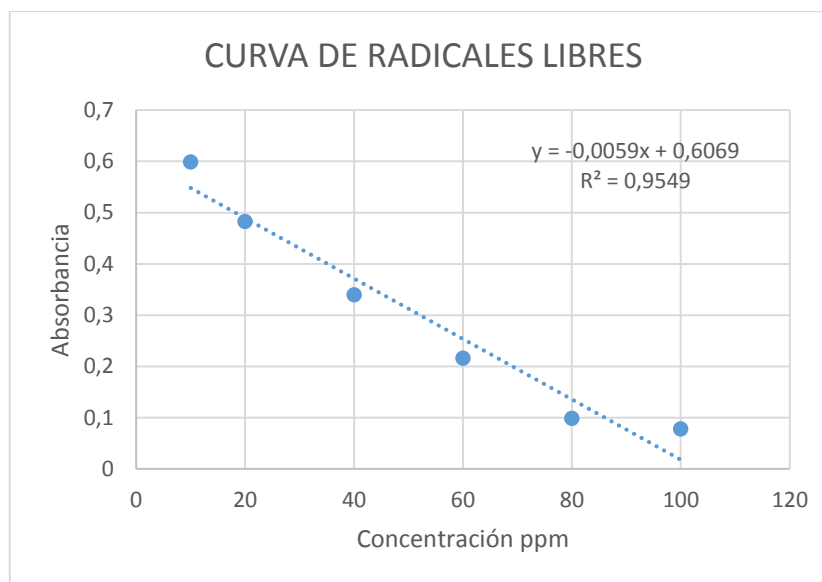
En la Tabla 8-3, se observar que la concentración de flavonoides del extracto de *Passiflora mixta* fue 24, 008 mg EQ/ mL extracto; según estudios anteriores el extracto hidroalcohólico al 70 % se cuantificó 26, 05 mg EQ/ mL de extracto de hojas desecadas de *Passiflora mixta*. Estudios realizados por (Guamán M, 2016, pp. 67-68) la cuantificación del extracto liofilizado de *P. mixta* fue de 379, 545 mg EG/g, esta diferencia se debe a la liofilización de los extractos, de acuerdo con la dosis efectiva se determinó que a 200 mg/kg no modifica la actividad locomotora en el ratas (*mus musculos*), mientras que existe una actividad ansiolítica destacable.

De acuerdo con los resultados anteriores se calcula la nueva dosis para humanos y permitió determinar la dosis 15 ml por cada 5 mL de elixir de acuerdo a la concentración de flavonoides totales calculada en la presente investigación. En la investigación de Chabariberi et al. (2009, pp. 862-863), realiza la determinación de flavonoides totales por espectrofotometría en las hojas de *P. alata* cuyo resultado es de 26, 78 mg rutina/ ml descrito en la Farmacopea Europea, utilizando rutina como una sustancia de referencia por ser un flavonol diglicosilado (se deriva quercetina), cuya estructura química está cerca de la glucósidos flavonoides presentes en las especies estudiadas.

Hay que considerar que valores encontrados son mayores a los obtenidos *P. mixta*, estas variaciones pueden deberse al tipo de estándar usado.

En la investigación realizada por (Román, 2017, pp. 65-68) realizó la evaluación toxicológica del extracto de hojas de *P. mixta* y *P. liguralis* sobre *rattus norvegicus*, cuyos resultados fueron que a dosis de 300- 2000 ppm no existe efectos tóxicos.

### 3.7 Cuantificación de radicales libres



**Gráfico 2-3:** Curva de radicales libres  
Realizado por: AUCAPIÑA, Angie, 2017

**Tabla 9-3:** Resultados de los radicales libres

Parámetros	Capacidad captadora de radicales	Actividad antioxidante según los valores de IC <sub>50</sub>
Extracto de <i>Passiflora mixta</i>	IC 50: 12,05 ± 0.86 (µg mL <sup>-1</sup> )	Óptimo (IC <sub>50</sub> < 15 µg mL <sup>-1</sup> ), Bueno (15 µg mL <sup>-1</sup> < IC <sub>50</sub> < 50 µg mL <sup>-1</sup> ), Promedio (50 µg mL <sup>-1</sup> < IC <sub>50</sub> < 100 µg mL <sup>-1</sup> ), Débil (IC <sub>50</sub> ≥ 100 µg mL <sup>-1</sup> ).

Realizado por: AUCAPIÑA, Angie, 2017

Según el estudio realizado por (Pabón, L. et al. 2011, pp. 357-359), menciona que los valores de DPPH son más altos para los extractos de hojas que en los extracto de las frutas, debido a que tienen un contenido más alto de fenoles totales.

El método utilizado para medir la capacidad antioxidante de la *Passiflora mixta* fue DPPH, el tiempo necesario para que la lectura de la absorbancia sea estable fue de 60 minutos. La capacidad antioxidante está relacionada con la estructura, dependiendo del compuesto bioactivo presente en

extracto vegetal, en el caso de los monofenoles poseen menor capacidad antioxidante que los polifenoles son debido al número de grupo hidroxilo. (Rojano et al., 2012, pp.408-419)

La actividad antioxidante del extracto de *Passiflora mixta* fue de 12,05 ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ), según con los valores de referencia de (Caneschi et al, 2016, pp. 34-39). el resultado obtenido es óptimo ( $\text{IC}_{50} < 15 \mu\text{g mL}^{-1}$ ). El potencial antioxidante se atribuyó a la presencia de compuestos fenólicos como flavonoides y taninos, que son capaces de interrumpir las reacciones en cadena causadas por los radicales libres debido a su capacidad de donación de átomos de hidrógeno (Caneschi et al, 2016, pp. 34-39).

### 3.8 Control de calidad de los excipientes

El control calidad de los excipientes que son utilizadas para elaborar las formas farmacéuticas, es uno de todos los eslabones del sistema de Aseguramiento de Calidad en la Industria Farmacéutica. Cabe indicar que se evaluaron algunos de estos parámetros que forma parte del requisito, cumpliendo con las especificaciones vigentes en las monografías.

#### 3.8.1 Metilparabeno

**Tabla 10-3:** Control de calidad de los excipientes, Metilparabeno para la elaboración del elixir de *Passiflora mixta*.

Tipo de análisis	Especificación	Resultado
<b>Descripción</b>	Cristales incoloros o polvo cristalino blanco, libre de	Cumple
<b>Solubilidad</b>	Soluble en agua, alcohol, éter	Cumple
<b>Residuo de Ignición</b>	No más 0.05%	Certificado de análisis

Realizado por: AUCAPIÑA, Angie, 2017

Los resultados de la Tabla 10-3, nos indica que el Metilparabeno cumple con el control de calidad según la metodología de la Farmacopea Americana (USP).

### 3.8.2 Propilparabeno

**Tabla 11-3:** Control de calidad de los excipientes, Propilparabeno para la elaboración del elixir de *Passiflora mixta*.

Tipo de análisis	Especificación	Resultado
Descripción	Cristales incoloros o polvo blanco, libre de partículas	Cumple
Solubilidad	Soluble en agua y alcohol	Cumple
pH	Entre 9.5-10.5	9.8
Residuo de ignición	No más 0.05%	Certificado de análisis

Realizado por: AUCAPIÑA, Angie, 2017

Los resultados de la Tabla 11-3, nos indica que el Propilparabeno cumple con el control de calidad según la metodología de la Farmacopea Americana (USP).

### 3.8.3 Ácido cítrico

**Tabla 12-3:** Control de calidad de los excipientes, Ácido cítrico para la elaboración del elixir de *Passiflora mixta*.

Tipo de análisis	Especificación	Resultados
Descripción	Cristales incoloros o translúcidos, o un polvo cristalino, eflorescente blanco. Es inodoro y tiene fuerte	Cumple
Solubilidad	Etanol, éter, agua	Cumple
pH	Entre 5,0 a 7,5	6,01
Residuo de ignición	No más 0.05%	Certificado de análisis

Realizado por: AUCAPIÑA, Angie, 2017

Los resultados expresados en la Tabla 12-3, nos indica que el ácido cítrico cumple con el control de calidad según la metodología de la Farmacopea Americana.



### 3.8.4 Ácido ascórbico

**Tabla 13-3:** Control de calidad de los excipientes, Ácido ascórbico para la elaboración del elixir de *Passiflora mixta*.

Tipo de análisis	Especificación	Resultados
<b>Descripción</b>	Polvo cristalino blanco o casi blanco o cristales incoloros, que se colorean por exposición al aire y a	Cumple
<b>Solubilidad</b>	Etanol, éter, cloroformo, glicerina.	Cumple
<b>pH</b>	Entre 5,0 a 7,5	6,06
<b>Determinación del residuo de ignición</b>	No más de 0,1 %.	Cumple certificado

Realizado por: AUCAPIÑA, Angie, 2017

Los resultados expresados en la Tabla 13-3, nos indica que el ácido ascórbico cumple con el control de calidad según la metodología de la Farmacopea Americana.

### 3.8.5 Citrato sódico

**Tabla 14-3:** Control de calidad de los excipientes, Citrato sodio para la elaboración del elixir de *Passiflora mixta*.

Tipo de análisis	Especificación	Resultados
<b>Descripción</b>	Cristales o un polvo cristalino blanco con un sabor refrigerante y	Cumple
<b>Solubilidad</b>	Etanol, agua	Cumple
<b>pH</b>	7.5–8.5	2,3
<b>Residuo de ignición</b>	No más 0.05%	Certificado de análisis

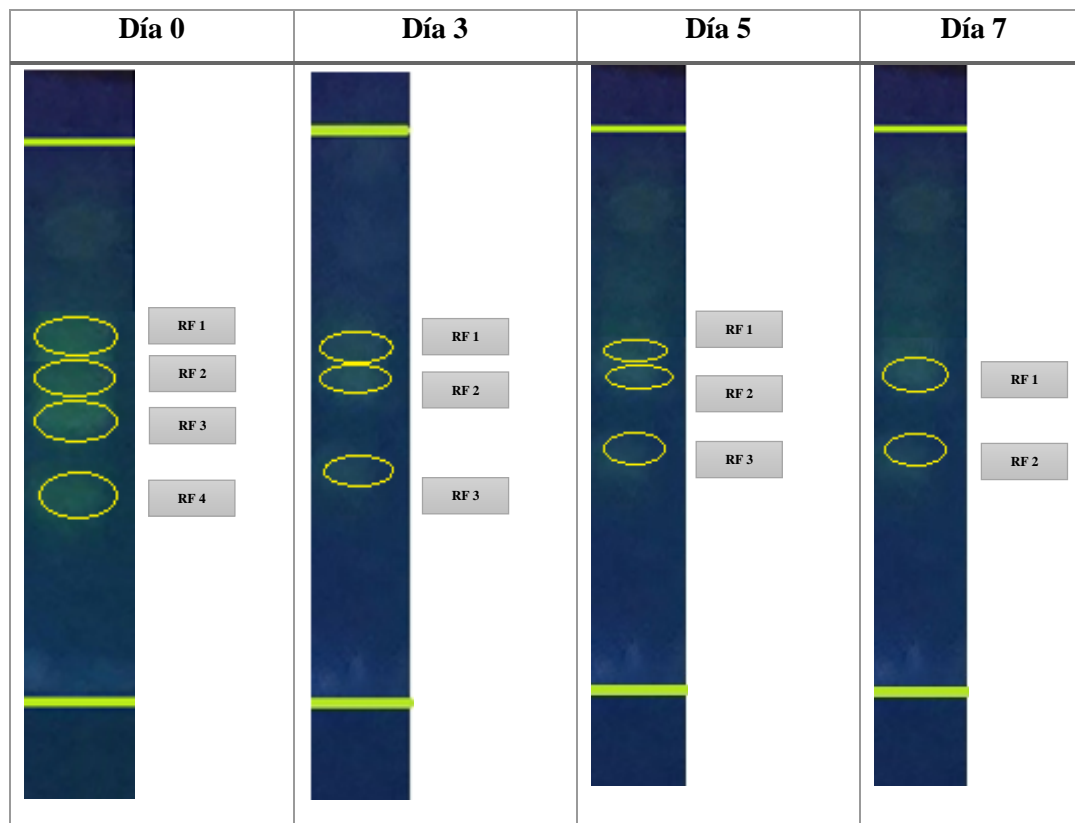
Realizado por: AUCAPIÑA, Angie, 2017

Los resultados expresados en la Tabla 14-3, nos indica que el citrato sódico cumple con el control de calidad según la metodología de la Farmacopea Americana.

### 3.9 Control de estabilidad de los extracto a diferentes condiciones

#### Condiciones Ácidas

**Tabla 15-3:** Control de estabilidad del extracto de *Passiflora mixta* a medio ácido



Realizado por: AUCAPIÑA, Angie, 2017

**Rf1**= Isoramnetina-3-O-glucósido (flavona)

**Rf2**= apigenina-8-C-glucósido (flavona)



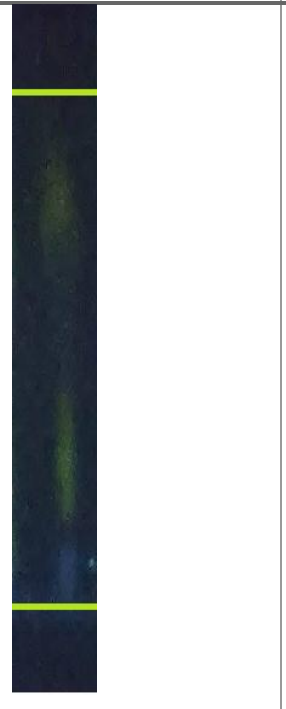
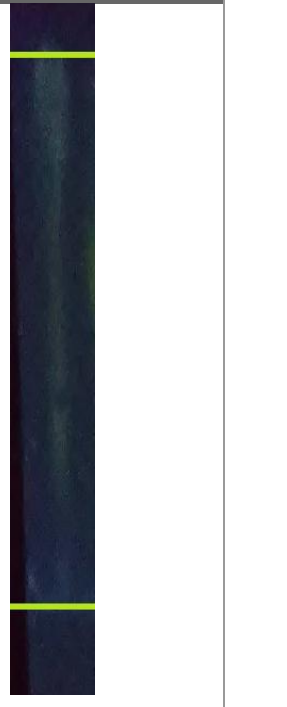
**Rf3**= quercetin-3-O-glucósido (flavonol)

**Rf4**= Isoorientina (Flavona)

En la Tabla 15-3 muestra las cromatografías del extracto hidroalcohólico sometido a condiciones ácidas, según la investigación realizadas por Martínez, F. & González, J., (2002, p. 36), los flavonoides son estable en medios ácidos a pH 4-5, los O-glicósidos en medios ácidos puede hidrolizarse provocando la liberación tanto de los carbohidratos ligados y su aglicona, pero requieren condiciones más fuertes para su hidrólisis en el caso de los flavonoides C-glicósidos que en estas condiciones pueden sufrir reordenamiento. Se puede observar que en el Rf 3 aparece hasta el día cinco, esto se debe que las actividades de las flavonas son más fuertes que las de los flavonoles.

### Condiciones Alcalinas

**Tabla16-3:** Control de estabilidad del extracto de Passiflora mixta a medio alcalino

Día 0	Día 3	Día 5	Día 7
			

Realizado por: AUCAPIÑA, Angie, 2017

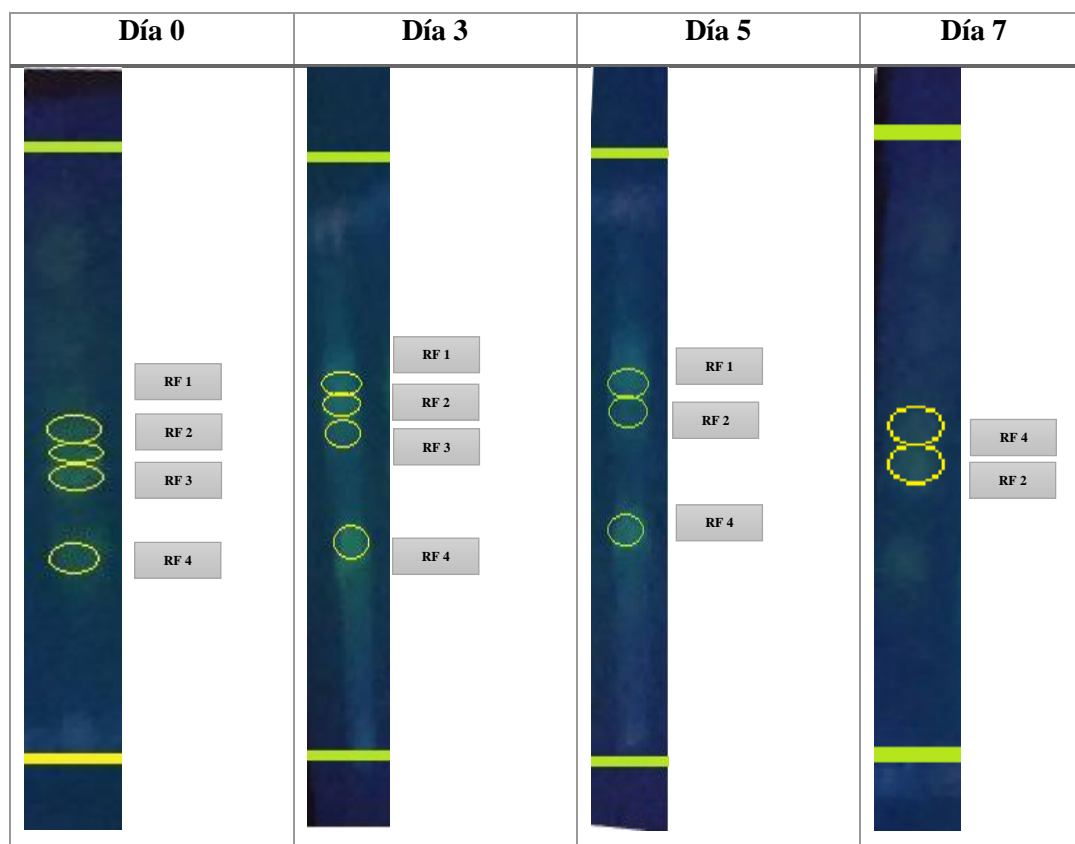
**Rf1**= apigenina-8-C-glucósido (flavona)

**Rf2**= quercetin-3-O-glucósido (flavonol)

De acuerdo con Martínez, F. & González, J., (2002, p. 37) en condiciones alcalinas fuertes el núcleo flavonoide se rompe liberando sustancias de menor peso molecular esto sucede con los flavonoides altamente hidroxilados, se descomponen por acción de las bases fuertes. En el caso de la rutina se forma una sal y aparece una estructura quinónica en el anillo B, generando radicales libres. Como se puede observar en la Tabla 16-3, solo el primer día se pudo identificar.

## Condiciones Peróxido

**Tabla 17-3:** Control de estabilidad del extracto de *Passiflora mixta* a medio Peróxido



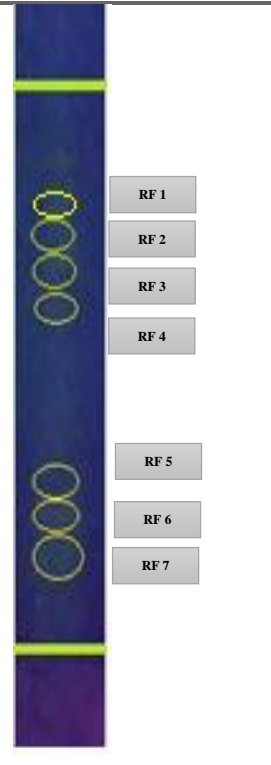
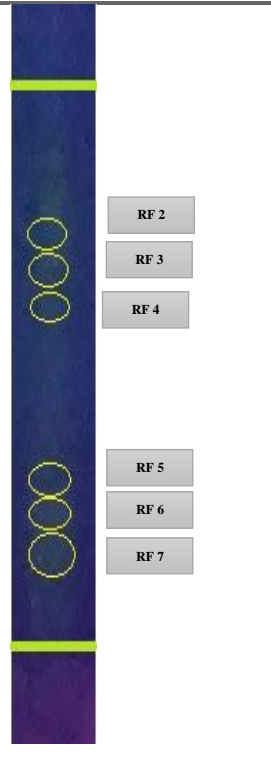
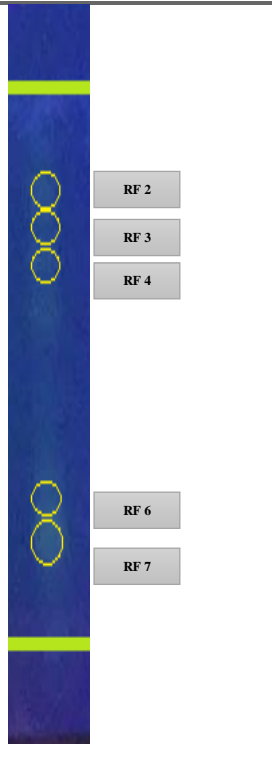
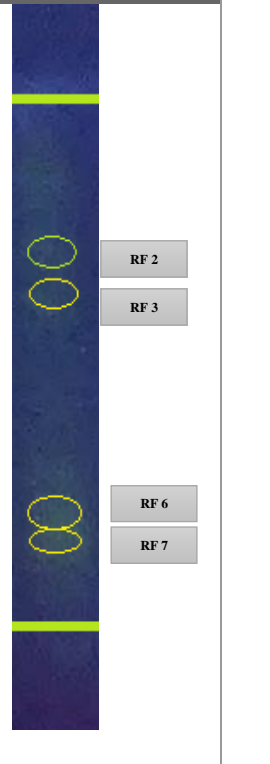
Realizado por: AUCAPIÑA, Angie, 2017

Rf1= Isoramnetina-3-O-glucósido; Rf2= Vitexina (apigenina-8-C-glucósido); Rf3= Quercetina - 3- glucósido; Rf4= Isoorientina

En la Tabla 17-3 se observa al extracto frente al daño oxidativo. Según Martínez, F. & González, J., (2002, p.247), los flavonoides previene la oxidación esto se debe a su acción antioxidante, de acuerdo con Martínez, (2005, p. 12) indica que el enlace doble C-2 C-3, el carbonilo C-4, y los hidroxilos en C-3 y C-5, son esenciales para la acción antioxidante en los flavonoides. Según los criterios de Martinez et al., (2002, p. 272), el flavonoide quercetina ejercer una función antioxidante efectiva. Lo cual coincide con los Rf encontrados en el cromatograma.

## Condiciones en luz

**Tabla 18-3:** Control de estabilidad del extracto de Passiflora mixta expuesto a luz.

Día 0	Día 3	Día 5	Día 7
			

Realizado por: AUCAPINA, Angie, 2017

Rf1= Schaftoside; Rf2= Isoramnetina-3-O-glucósido; Rf3= Vitexina (apigenina-8-C-glucósido); Rf4= Quercetina -3- glucósido; Rf5= Isoorientina; Rf6= Vitexina-2''-O- glucósido; Rf7= Isoviteixina-2''-O-glucósido

Las flavonas y flavonoles absorben la luz en las regiones visible y ultravioleta (UV) actuando como filtros para impedir la penetración de esta radiación y prevenir el efecto dañino inducido por la luz UV. Todas estas investigaciones indican que los flavonoides hidroxilados junto con los dihidroxilados confieren una protección adicional contra las radiaciones UV-B, lo que sería mediado por su relativa capacidad antioxidante. Como parte de la investigación realizado por Fahlman et al., (2009, pp-123-127) indica que la quercetina expuesta a radiación da como resultado una pequeña conversión, provocando la descomposición del anillo C, concluyendo que la quercetina experimenta una descomposición lenta, coincidiendo con los resultados expuesto en la tabla 18-3 donde el Rf de la quercetina desaparece en el día 5.

## Análisis del extracto de *Passiflora mixta*

**Tabla 19-3:** Test Anova para la concentración de extracto

Pruebas de efectos inter-sujetos					
Variable dependiente: Concentración_mLEQ					
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	1960,168 <sup>a</sup>	15	130,678	187,376	,000
Intersección	3475,225	1	3475,225	4983,035	,000
Condiciones_extremas	1656,631	3	552,210	791,800	,000
Día	219,260	3	73,087	104,797	,000
Condiciones_extremas * Día	84,278	9	9,364	13,427	,000
Error	11,159	16	,697		
Total	5446,552	32			
Total corregido	1971,327	31			

a. R al cuadrado = ,994 (R al cuadrado ajustada = ,989)

Realizado por: AUCAPIÑA, Angie, 2017

### Planteamiento de hipótesis

**Ho:** No hay diferencia significativa en las concentraciones con respecto a las condiciones extremas y los días. Valor- $p > 0,05$ .

**H1:** Si hay diferencia significativa en las concentraciones con respecto a las condiciones extremas y los días. Valor- $p < 0,05$ .

### Decisión del estudio:

En la Tabla 19-3 recoge los efectos principales de cada uno de los factores. Se observa que en condiciones extrema, Día y su interacción el p-valor es menor al 0,05, existiendo diferencia significativa por tal motivo es evidente que estos factores van influir sobre la concentración \_ml EQ del extracto. Por lo que se rechaza Ho y se acepta H1.

Para determinar qué condiciones extremas son significativamente diferente se utiliza el método Tukey

**Tabla 20-3:** Test de pos-hoc HSD Tukey para la comparación de condiciones extremas

Comparaciones múltiples						
Variable dependiente: Concentración_mLEQ						
HSD Tukey						
(I) Condiciones_extremas	(J) Condiciones_extremas	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Oxidativo	Alcalino	5,12110 <sup>a</sup>	1,137315	,001	1,99275	8,24945
	Ácido	-2,80835	1,137315	,090	-5,93670	,32000
	Luz	-13,27082 <sup>a</sup>	1,137315	,000	-16,39916	-10,14247
Alcalino	Oxidativo	-5,12110 <sup>a</sup>	1,137315	,001	-8,24945	-1,99275
	Ácido	-7,92945 <sup>a</sup>	1,137315	,000	-11,05780	-4,80110
	Luz	-18,39192 <sup>a</sup>	1,137315	,000	-21,52027	-15,26357
Ácido	Oxidativo	2,80835	1,137315	,090	-,32000	5,93670
	Alcalino	7,92945 <sup>a</sup>	1,137315	,000	4,80110	11,05780
	Luz	-10,46247 <sup>a</sup>	1,137315	,000	-13,59082	-7,33412
Luz	Oxidativo	13,27082 <sup>a</sup>	1,137315	,000	10,14247	16,39916
	Alcalino	18,39192 <sup>a</sup>	1,137315	,000	15,26357	21,52027
	Ácido	10,46247 <sup>a</sup>	1,137315	,000	7,33412	13,59082

Se basa en las medias observadas.  
El término de error es la media cuadrática(Error) = 5,174.  
\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0,05.

Realizado por: AUCAPIÑA, Angie, 2017

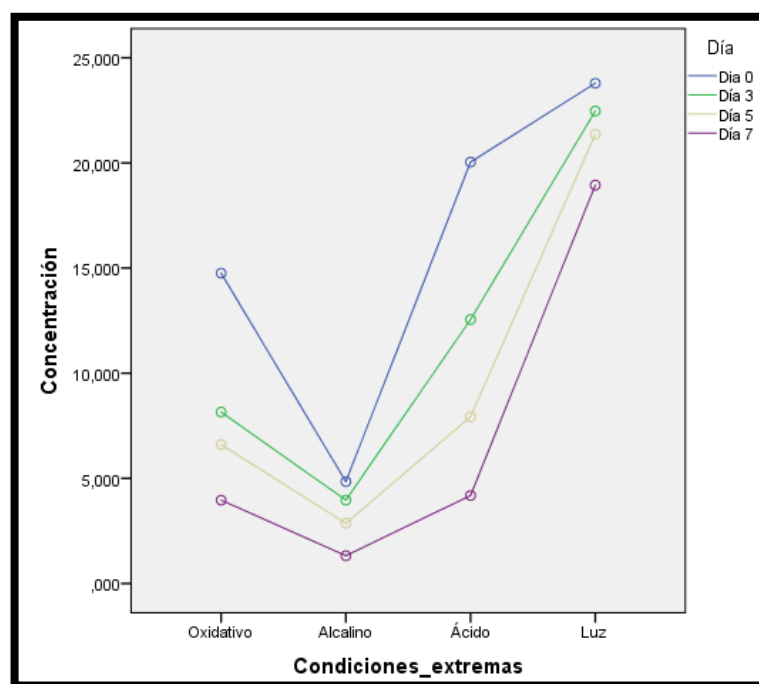
**Tabla 21-3:** Test pos- hoc HSD tukey de grupos homogéneos de concentraciones a diferentes condiciones extremas

Subconjuntos homogéneos				
Concentración_mLEQ				
HSD Tukey <sup>a,b</sup>				
Condiciones_extremas	N	Subconjunto		
		1	2	3
Alcalino	8	3,24887	8,36998	21,64079
Oxidativo	8			
Ácido	8		11,17832	
Luz	8	1,000	,090	1,000
Sig.				

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.  
Se basa en las medias observadas.  
El término de error es la media cuadrática(Error) = 5,174.  
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 8,000.  
b. Alfa = 0,05.

Realizado por: AUCAPIÑA, Angie, 2017

En la Tabla 21-3 se observar que existe diferencia significativa entre los tres subconjuntos, mientras que el segundo subconjunto no se aprecia diferencia significativa entre el oxidativo y ácido, a pesar que el valor del medio ácido es mayor que el de oxidativo, esto se debe que, en medio ácido los flavonoides son más estables. Siendo el tercer conjunto que corresponde a la luz es el medio donde la concentración del extracto no se ve tan afectada.

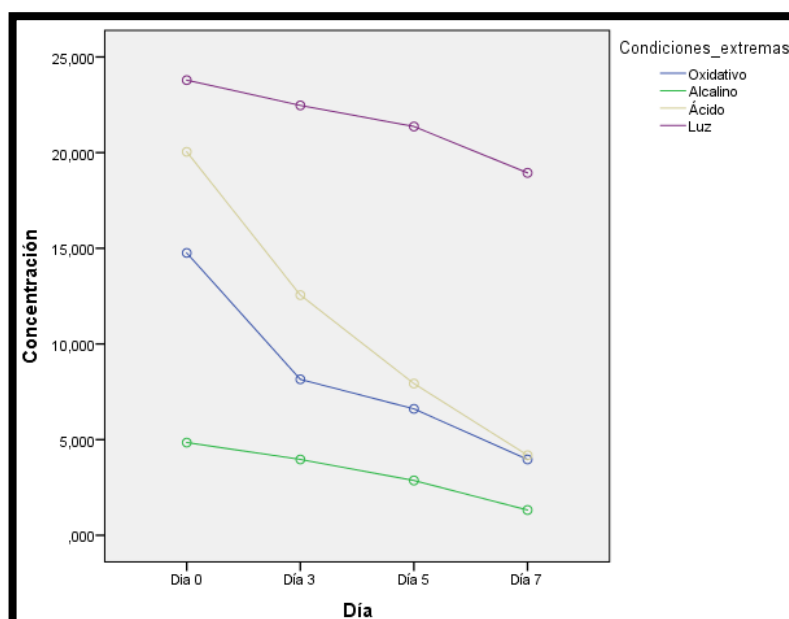


**Gráfico 3-3:** Gráfico de las concentraciones en condiciones extremas  
Realizado por: AUCAPIÑA, Angie, 2017

### Explicación:

En el gráfico 3-3 se observa en el eje de las x las condiciones extremas y en el eje de las y las concentración mL EQ/mL del extracto, los días se representa con los diferentes colores, se aprecia que en condiciones alcalinas provoca una disminución representativa en la concentración del extracto y se ve afectado en el transcurrir del tiempo comparado con las demás variables, en el caso del medio ácido y oxidativo mantiene una concentración algo similar no obstante existe un descenso evidente en la concentración de las condiciones oxidativas, en cuanto al extracto expuesto a la luz mantiene una concentración igual al extracto puro en los primeros días, pero se puede apreciar que existe un decrecimiento a lo que se atribuye a la degradación o reordenamiento de los metabolitos estudiados.





**Gráfico 4-3:** Gráfico de concentraciones en diferentes días  
Realizado por: AUCAPIÑA, Angie, 2017

### Explicación:

En el gráfico 4-3 se observa que los niveles del factor día se encuentra en el eje x y el eje de las y está representado por las diferentes concentraciones del extracto de *Passiflora mixta* sufre y se comprueba que sufre degradación de metabolitos secundarios al transcurrir los días, esto depende de las condiciones extremas que se encuentre el extracto, la luz presenta un valor aproximado a la concentración del extracto puro que es de 24,008 mL EQ/ mL, seguido por el medio ácido con una concentración de 23,217 mL EQ/mL, esto se debe a que los flavonoides son estables a medio ácido, mientras que en condiciones oxidativo resulta ser menor en comparación con el medio ácido, con respecto a las condiciones alcalinas los flavonoides presentan una concentración baja en comparación con los demás medios

### 3.10 Control del elixir

**Tabla 22-3:** Análisis sensorial del elixir

PARÁMETRO	RESULTADO
Aspecto	Líquido café oscuro
Color	Verde-Café
Olor	Agradable herbáceo
Sabor	Chocolate, alcohólico

Realizado por: AUCAPIÑA, Angie, 2017

En la Tabla 22-3 se observa los resultados de las características organolépticas de los elixires, presentado un aspecto líquido y homogéneo, se le adicionó el sabor a chocolate permitiendo enmascara el sabor amargo del extracto debido a la presencia de alcaloides y taninos, presentó olor herbáceo agradable debido a los excipientes utilizados, color verde-café. Cabe indicar que no presentaron espuma y ni sedimento, lo que demuestra la ausencia de un proceso fermentativo, presentado propiedades organolépticas con mejor palatabilidad.

**Tabla 23-3:** Determinación del pH y densidad del elixir

Parámetros	Valor obtenido		
	pH4	pH5	pH6
Ph	4,10	5,09	6,04
Densidad	0,980	0,990	0,976
Cuantificación de flavonoides	20,34 mEQ/mL	23,21 mEQ/mL	19,71 mEQ/mL

Realizado por: AUCAPIÑA, Angie, 2017

**Valor de extracto fue:** 24,008 mEQ/ mL

**pH del extracto:** 5,10

En la Tabla 23-3 se observa los valor obtenidos en el análisis de las formulación y se puede comparar que los elixires a pH 4 y 5, se asemeja con el pH del extracto, valor que está determinado especificaciones de la (USP, 2009). La densidad comprueba la calidad del producto (Milanés et al, 1999), se observa que los valores obtenidos cumplen con los parámetros establecidos para el elixir comercial.

La concentración de flavonoides de los elixires a distintos pH difiere entre sí, pero se observa que la formulación del elixir pH 5 tiene una contracción cercan al extracto puro.

#### Porcentaje de pérdida de volumen

**Tabla 24-3:** Resultado del porcentaje de pérdida de volumen

Formulación	Inicio ( 0 días)	Final ( 30 días)	Resultado
pH 4	50,0 mL	49,9 mL8	0,034
pH 5	50 mL	49,90 mL	0,025
pH 6	49,5 mL	49, 3 mL	0,042

Realizado por: AUCAPIÑA, Angie, 2017

En la Tabla 24-3 se observa que las formulaciones fueron expuestas al calor a 45°C por 30 días, el calor se asociaría con la pérdida de componentes volátiles importantes. En la tabla 20-3 se

observa que los valores de pérdida de los diferentes formulaciones se encuentra dentro del margen establecido por la Farmacopea argentina, que el volumen promedio de las soluciones, suspensiones o jarabe no debe ser menor que el 95% declarado en el rótulo. En la farmacopea Americana el límite de error en mL para 50 mL de solución es de 0,05.

### **Análisis Microbiológico**

**Tabla 25-3:** Análisis microbiológico del elixir

<b>Microorganismo</b>	<b>Especificaciones</b>	<b>Resultado</b>
Aerobios mesófilas totales	< 10 UFC	<b>Ausencia</b>
Coliformes totales	< 10 UFC	<b>Ausencia</b>
Coliformes fecales	Ausencia	<b>Ausencia</b>
Mohos y levaduras	< 100UFC	<b>Ausencia</b>

Realizado por: AUCAPIÑA, Angie, 2017

### **Se determina:**

**Aerobios mesófilos:** Parámetros general de higiene durante el proceso

**Coliformes totales:** Contaminación fecal

**Coliformes fecales:** Contaminación fecal

**Mohos y levaduras:** Micotoxigenicidad potencial

Se le realizó el análisis microbiológico a los elixires obtenidos, en la Tabla 25-3 indica ausencia de microorganismos aerobios mesófilos, coliformes fecales, *E. coli*, *S. aureus*, hongos y levaduras lo cual indica que es apto para el consumo humano debido a que no presenta contaminación bacteriana.

## Análisis estadístico del elixir

**Tabla 26-3:** Test de Anova para concentración de los elixires

Pruebas de efectos inter-sujetos					
Variable dependiente: Concentración_mLEQ					
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	389,645 <sup>a</sup>	11	35,422	219,036	,000
Intersección	8379,641	1	8379,641	51816,200	,000
pH_Elixir	351,366	2	175,683	1086,350	,000
Día	29,336	3	9,779	60,467	,000
pH_Elixir * Día	8,943	6	1,491	9,217	,001
Error	1,941	12	,162		
Total	8771,227	24			
Total corregido	391,585	23			

a. R al cuadrado = ,995 (R al cuadrado ajustada = ,991)

Realizado por: AUCAPIÑA, Angie, 2017

**H<sub>0</sub>**= No existe diferencia significativa en las concentraciones tanto en los niveles de pH y los niveles de los días.

Valor-p>0,05

**H<sub>1</sub>**= Existe diferencia significativa en las concentraciones tanto en los niveles de pH y los niveles de los días. Valor-p<0,05

En la Tabla 26-3 se observa que todos los efectos de este modelo planteado son significativos y por lo tanto es este modelo donde vamos a realizar el estudio. Existe diferencia significativa entre los distintos factores fijos, incluyendo su interacción porque su valor-p es menor que 0,05.

**Tabla 27-3:** Test de pos-hoc HSD Tukey para la comparación de los elixires a diferentes pH

Comparaciones múltiples						
Variable dependiente: Concentración_mLEQ						
HSD Tukey						
(I) pH_Elixir	(J) pH_Elixir	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
pH4	pH5	-3,6894*	,20107	,000	-4,2258	-3,1530
	pH6	5,6167*	,20107	,000	5,0803	6,1531
pH5	pH4	3,6894*	,20107	,000	3,1530	4,2258
	pH6	9,3061*	,20107	,000	8,7697	9,8425
pH6	pH4	-5,6167*	,20107	,000	-6,1531	-5,0803
	pH5	-9,3061*	,20107	,000	-9,8425	-8,7697

Se basa en las medias observadas.  
El término de error es la media cuadrática(Error) = ,162.  
\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel ,05.

Realizado por: AUCAPIÑA, Angie, 2017

**Tabla 28-3:** Test pos-hoc HSD Tukey de grupos homogéneos de concentraciones a diferentes pH

Concentración_mLEQ				
HSD Tukey <sup>a,b</sup>				
pH_Elixir	N	Subconjunto		
		1	2	3
pH6	8	19,7113		
pH4	8		20,3480	
pH5	8			23,2174
Sig.		1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

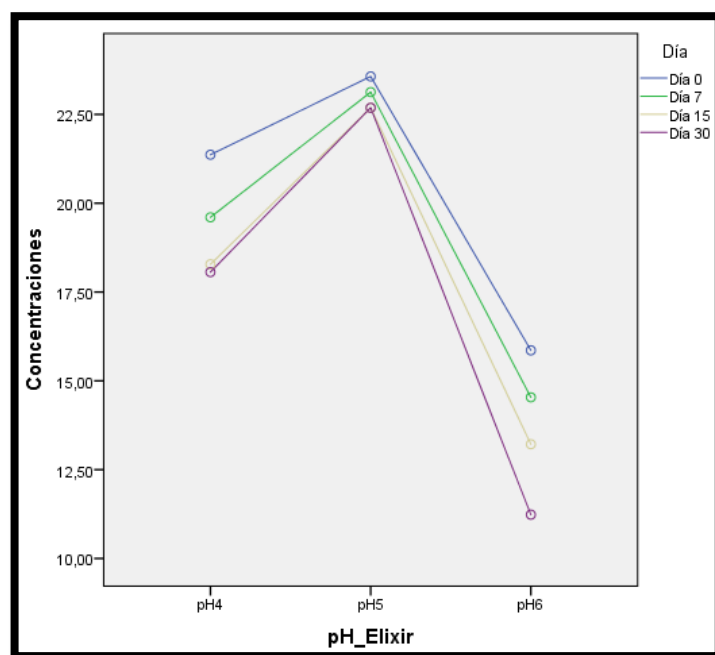
El término de error es la media cuadrática(Error) = ,162.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 8,000.

b. Alfa = ,05.

Realizado por: AUCAPIÑA, Angie, 2017

En la tabla 28-3 se comprueba que hay diferencia significativa entre los tres subconjuntos analizados. El elixir a pH 6 es la formulación que tiene la concentración más baja. Sin embargo el elixir a pH 4 es menor que la concentración del elixir a pH 5, siendo este el valor más alto comparado con los otros



**Gráfico 5-3:** Gráfico de las concentraciones a diferentes pH  
Realizado por: AUCAPIÑA, Angie, 2017

### Explicación:

En el gráfico 5-3 se observa que los niveles de pH están en el eje de las x y que en el eje de las y están las concentraciones, analizando el gráfico muestra que al variar el pH de la formulación afectara a la concentración de los flavonoides En el elixir a pH 4 presenta decrecimiento mínimo, mientras que el elixir a pH 5 mantiene una concentración aproximado al extracto puro de *Passiflora mixta*, de modo que es la formulación que mantiene más a sus principios activos. Por lo que se refiere al elixir a pH6 existe un descenso de las concentraciones siendo esta formulación de elixir la menos indicada porque provoca la degradación gradual de los compuestos.

**Tabla 29-3:** Test de pos-hoc HSD Tukey para la comparación de los elixires a diferentes días

Comparaciones múltiples						
Variable dependiente: Concentración_mLEQ						
HSD Tukey						
(I) Día	(J) Día	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Día 0	Día 7	1,1747 <sup>*</sup>	,23218	,001	,4854	1,8640
	Día 15	2,2026 <sup>*</sup>	,23218	,000	1,5133	2,8919
	Día 30	2,9368 <sup>*</sup>	,23218	,000	2,2475	3,6261
Día 7	Día 0	-1,1747 <sup>*</sup>	,23218	,001	-1,8640	-,4854
	Día 15	1,0279 <sup>*</sup>	,23218	,004	,3386	1,7172
	Día 30	1,7621 <sup>*</sup>	,23218	,000	1,0728	2,4514
Día 15	Día 0	-2,2026 <sup>*</sup>	,23218	,000	-2,8919	-1,5133
	Día 7	-1,0279 <sup>*</sup>	,23218	,004	-1,7172	-,3386
	Día 30	,7342 <sup>*</sup>	,23218	,036	,0449	1,4235
Día 30	Día 0	-2,9368 <sup>*</sup>	,23218	,000	-3,6261	-2,2475
	Día 7	-1,7621 <sup>*</sup>	,23218	,000	-2,4514	-1,0728
	Día 15	-,7342 <sup>*</sup>	,23218	,036	-1,4235	-,0449

Se basa en las medias observadas.  
El término de error es la media cuadrática(Error) = ,162.  
<sup>\*</sup>. La diferencia de medias es significativa en el nivel ,05.

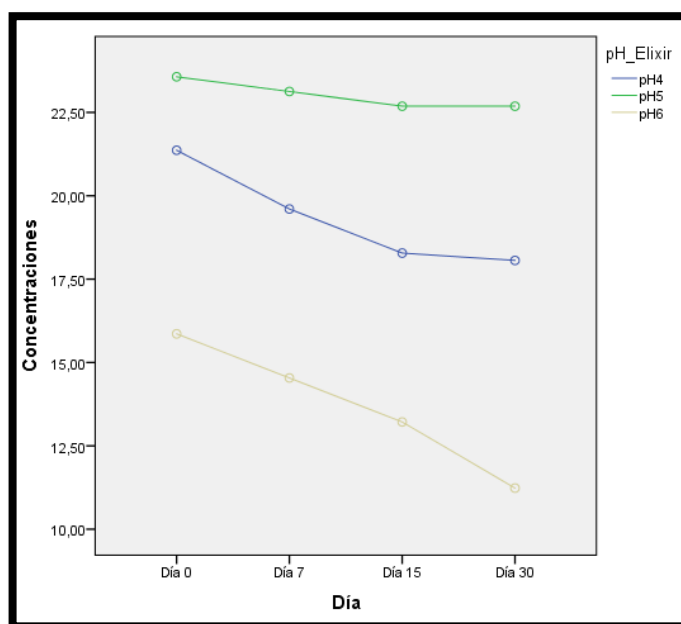
Realizado por: AUCAPIÑA, Angie, 2017

**Tabla 30-3:** Test pos-hoc HSD Tukey de grupos homogéneos de concentraciones a diferentes días

Subconjuntos homogéneos					
Concentración_mLEQ					
HSD Tukey <sup>a, b</sup>					
Día	N	Subconjunto			
		1	2	3	4
Día 30	6	17,3273	18,0615	19,0894	20,2642
Día 15	6				
Día 7	6				
Día 0	6	1,000	1,000	1,000	1,000
Sig.					

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.  
Se basa en las medias observadas.  
El término de error es la media cuadrática(Error) = ,162.  
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 6,000.  
b. Alfa = ,05.

Realizado por: AUCAPIÑA, Angie, 2017



**Gráfico 6-3:** Gráfico de las concentraciones a diferentes días  
Realizado por: AUCAPIÑA, Angie, 2017

#### Explicación:

En el gráfico 6-3 se representa al eje de las x a los diferentes días y al eje de las y con las concentraciones, se observa que el elixir a pH5 mantiene los valores de la concentración próxima a la concentración del extracto de manera que se considera la formulación más conveniente para mantener estable a los compuestos, en el elixir a pH 4 hay un descenso considerable de la concentración, en cuanto al elixir a pH6 existe un descenso representativo de la concentración por ende provoca la degradación de los compuestos estudiados



## CONCLUSIONES

Se demostró que la materia vegetal y el extracto fluido de *P. mixta* cumplen con los parámetros de calidad, descartando de esta manera cualquier contaminante proveniente del área de recolección y almacenamiento, haciéndola idónea para la elaboración de un fitofármaco.

El tamizaje fitoquímico realizado en el extracto fluido de las hojas de *Passiflora mixta*, se encontró la presencia de metabolitos secundarios como fenoles, flavonoides, alcaloides, saponinas, taninos, principios amargos.

Se cuantificó el contenido total de fenoles y flavonoides en el extracto mediante el método espectrofotómetro que fue de 495 mg GA/ mL y 24,008 mg EQ/ mL extracto respectivamente, los cuales presentaron alto contenido de compuestos, manteniendo correlación con estudios anteriores

Se observó mediante la preestabilidad del extracto de *P. mixta*, que los flavonoides se mantiene estable en medio ácido a pH de 4-5, cuando es expuesto a la luz los flavonoides actúa como filtros pero sufre una degradación lenta por lo que requiere de envases adecuados que lo protejan de la luz, mientras que en un medio alcalino provoca la degradación rápida de los compuestos.

El control de calidad de los excipientes se encontró dentro los límites establecidos por la USP 32, las cantidades utilizados en las formulaciones están permitidas por la FDA, considerándolos seguros para la elaboración de fitofármacos.

De acuerdo al estudio de estabilidad acelerada realizada en las formulaciones se concluye que el elixir a pH 5 mantiene una concentración de flavonoides totales cercano al valor del extracto de *P. mixta*, por lo que se determinó que estos compuestos activos del extracto no sufren degradación al combinarse con excipientes.

En los ensayos microbiológicos realizados a las formulaciones tomando como referencia la metodología de la USP 28, las pruebas reportaron ausencia total de microorganismos, resultados que nos aseguran una buena condición higiénica y por tanto no representa un riesgo para la salud humana.

## **RECOMENDACIONES**

- 1.-Tener en cuenta la época de recolección y la zona geográfica ya que de esto dependerá la composición fitoquímica y el efecto farmacológico.
- 2 Se recomienda realizar un estudio de estabilidad acelerada a un tiempo de 6 meses para verificar que no se alteren las características organolépticas y físico-químicas del producto.
- 3.- Se recomienda realizar estudios para la determinación de los metabolitos secundarios presentes en la especie, utilizando los métodos de HPLC, con estándares respectivos.
4. Realizar estudios clínicos para determinar si existe un cambio en la biodisponibilidad el fitofármaco.

## BIBLIOGRAFÍA

- ABBASI & NASSIRI. M.** “Neuroprotective Effects of Vitexin, a Flavonoid , on Pentylene-tetrazole-Induced Seizure in Rats”. *Chemical Biology & drug design* [en línea], 2012, (United State of America) 80 (2), pp. 274–278. [Consulta: 3 febrero 2017]. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.17470285.2012.01400.x/full>
- ARCOS, C.** “Revisión de la estabilidad de los medicamentos fotosensibles”, *Review medicament life*, vol. 35 n°4 (2017).
- BP, LONDRES, BRITISH PHARMACOPEI.** 6° Edición, Normas de Estándar Internacional, 2009, pp. 1264-1289
- CAMACHO, M. et. al.** “Modelo Educativo Europeo”, *Edusfarm*, [en línea], 2007, (España) pp. 1–14. [Consulta en: 10 febrero 2017] Disponible: <http://www.publicacions.ub.edu/revistes/edusfarm1/documentos/85.pdf>
- CANESCHI. L. et al.** ‘Spectrometric determination of flavonoids from Maytenus (Celastraceae) and Passiflora (Passifloraceae) leaves and comparison with an HPLC-UV method ’. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* [en línea], 2009, (Brasil) 19(4), pp. 860–864. [Consulta: 02 enero 2017]. ISSN 0102-695X. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2009000600011>
- CAPITAN, L.; et. al.** “Dependencia a benzodiacepinas”. *Trastornos Adictivos* [en línea], 2009, (España) 11(2), pp. 118–124. [Consulta: 5 febrero 2017]. Disponible es: <http://www.elsevier.es/es-revista-trastornos-adictivos-182-articulo-dependencia-benzodiacepinas-13139798#elsevierItemBibliografias>
- CARDOSO, L. & VERDECIA.** “Experiencia Cubana En El Estudio Y Aplicación De Medicamentos Herbarios”. *Rev. Cubana de Plantas Medicinales* [en línea], 1997, (España) 2(1), pp. 30–34. [Consulta: 6 febrero 2017]. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1028-47961997000100007](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47961997000100007).
- CARVAJAL, L. et al.** “Propiedades funcionales y nutricionales de seis especies de Pasiflora (Passifloraceae) del departamento del Huila, Colombia”, *Caldasia* [en línea], 2014, (Colombia) 36(1), pp. 1–15. [Consulta 6 febrero 2017]. Disponible: [10.15446/caldasia.v36n1.21243](http://dx.doi.org/10.15446/caldasia.v36n1.21243).

- CHABARIBERI, M et al.** “Determinación espectrometría dos flavonoides das folhas de Maytenus (Celastraceae) e de Passiflora (Passifloraceae)”, *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, [en línea], 2009, (Brasil) 19(4), pp. 860–864. [Consulta 7 febrero 2017]. Disponible: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-695X2009000600011](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2009000600011)
- CHIAPERO, A. et al.** “Estudios citogenéticos en especies de passiflora subgénero passiflora (passifloraceae)”, *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, [en línea], 2013, (España) 8(1), pp. 103–110. [Consulta en: 8 febrero 2017]. Disponible en: [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1851-23722013000100007](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-23722013000100007)
- DEGINANI, N.** “Las especies Argentinas del género Passiflora (Passifloraceae)”, *Darwiniana*, [en línea], 2001, (Argentina) 39(2), pp. 43–129. [Consulta en: 9 febrero 2017]. Disponible en: 10.4067/S0717-66432000000100006.
- ESCAMILLA, J. et al.** “Flavonoides y sus acciones antioxidantes”, *Fac Med NAM*, vol. 52, n° 2 (2009), (España) pp. 73–75.
- ESTRADA R, et al.** “Los flavonoides y el Sistema Nervioso Central”, *Salud mental* [en line], 2012, (México) 35(5), pp. 375–384. [Consulta: 15 febrero]. Disponible en: <https://0dialnet.unirioja.es.cataleg.uoc.edu/servlet/articulo?codigo=5229684&orden=1&info=link%5Chttps://0-dialnet.unirioja.es.cataleg.uoc.edu/servlet/extart?codigo=5229684>
- FERNÁNDEZ, et al.** “Producción científica cubana sobre plantas medicinales y productos naturales a partir de la base de datos Cuban scientific production about medicinal plants and natural products from PlantMedCUBA”. *Revista cubana de plantas medicinales* [en línea], 2013, (Cuba) 18(3), pp. 348–360. [Consulta: 5 febrero 2017]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/262744319\\_Produccion\\_cientifica\\_cubana\\_sobre\\_plantas\\_medicinales\\_y\\_productos\\_naturales\\_a\\_partir\\_de\\_la\\_base\\_de\\_datos\\_PlantMed\\_CUBA\\_1967-2010](https://www.researchgate.net/publication/262744319_Produccion_cientifica_cubana_sobre_plantas_medicinales_y_productos_naturales_a_partir_de_la_base_de_datos_PlantMed_CUBA_1967-2010)
- GARCÍA, C. et al** “Metabolitos secundarios en los extractos secos de Passiflora incarnata L., Matricaria recutita L. y Morinda citrifolia L.”, *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, vol.14, n° 2 (2009), (Cuba) pp. 1–7.

**GOMES, S. et al.** “Accelerated solvent extraction of phenolic compounds exploiting a Box-Behnken design and quantification of five flavonoids by HPLC-DAD in *Passiflora* species”, *Microchemical Journal. B.V*, n°132 (2017) pp. 28–35.

**GUAMÁN. M.** Determinación de la dosis efectiva para actividad ansiolítica del extracto etanólico de hojas de *Passifloras ligulares* y *Passiflora mixta* en ratones *Mus musculus* mediante administración oral. (Tesis pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. (Riobamba-Ecuador). 2016. p.71

**GUTIÉRREZ, I.; SIMÓN, K.; MERCADO, F.** “Mecanismo celular y molecular de la adicción a benzodiazepinas”, *Actualización por temas Salud Mental*, vol. 3636 n°4 (2013) pp. 325–329.

**HERRERO, V. & CANO, A.** “Un caso de trastorno adaptativo con ansiedad: evaluación, tratamiento y seguimiento” *Suma Psicología*, vol. 6 (2010) pp. 53–59.

**KUMAR, R. et al.** “Biochimie Quercetin-6- C - b - D -glucopyranoside , natural analog of quercetin exhibits anti-prostate cancer activity by inhibiting Akt-mTOR pathway via aryl hydrocarbon receptor”, *Biochimie. Elsevier Ltd*, n°. 119, (2015), (United State of America) pp. 68–79.

**LI, H. et al.** “Comparative studies on anxiolytic activities and flavonoid compositions of *Passiflora edulis* “edulis” and *Passiflora edulis* “flavicarpa”, *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 133, n°3 (2011), (United State of America) pp. 1085–1090.

**LINDBERG, A. et al.** “The fragility of extreme specialization: *Passiflora mixta* and its pollinating hummingbird *Ensifera ensifera*”. *Journal of Tropical Ecology. Cambridge University Press*, vol. 17 n°2 (2001),(United State of America) pp. 323–329.

**LOPEZ F., et al.** “A century of barbiturates in neurology”. *Revista de Neurologia*, vol. 39 n° 8 (2004), (United State of America) pp. 767–775.

**LÓPEZ, V., et al.** “Uso y abuso de las benzodiazepinas”, *MEDISAN Centro Provincial de Información de Ciencias Médicas*, vol.14 n°4 (1997) pp. 67-98

- LUMA, W., et al** “Estudio comparativo de Passiflora taxones hojas: II. Un perfil cromatográfico”. *Review plants medical*. (2016) pp. 40–49.
- LUNA, M., et al.** “Ansiedad y Depresión”, *Farmacología y Terapéutica. Sociedad Venezolana de Farmacología y Farmacología Clínica y Terapéutica*, vol.20 n°2, (2001) pp. 111–122.
- LUTWIN, R.** “Luteolina capsicum annum”. *Review biology american* vol. 2 n°4, (2015). pp. 13–22.
- MADRIAL, J.** “Lista de Especies de Passifloraceae de Colombia”. *Redalyc.org*, n°1 (2000) pp. 320–335.
- MARCIA, L. & CISTERNAS, F.** “Fitoterapia, sus orígenes, características y situación en Chile”. *Revista Médica de Chile*, vol.138 n°10, (Chile) pp. 1288–1293.
- MARTÍNEZ, F. & GONZÁLEZ, J.** “Los flavonoides: Propiedades y acciones antioxidantes”. *Nutrición Hospitalaria*, vol.17 n°6 (2002), (México) pp. 271–278.
- MEDEL, J. et al.** “Receptor GABAA: implicaciones farmacológicas a nivel central”. *Archivos de neurociencias*, vol. 16 n°1 (2011), (México, D.F.) pp. 40–45.
- MELETIS, C.** “Una mirada selectiva a las interacciones entre fármacos y medicina natural”. *Medicina integrativa*, (2009) pp. 1095–1103.
- MÉNDEZ, C.** “Actualidad de la medicina tradicional herbolaria”. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, vol. 11 n°2 (2006).
- MÜLLER, S. et al.** “LC and UV determination of flavonoids from Passiflora alata medicinal extracts and leaves”. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, vol. 37 n°2 (2005), (United State of America) pp. 399–403.
- NAVARRETE, F. et al.** “Estado actual del tratamiento de la ansiedad”. *Medicine: Programa de Formación Médica Continuada Acreditado. Elsevier* [en línea], 2013, (España) 11(46), pp. 2747–2754. [Consulta: 15 febrero 2017]. Disponible: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304541213706930>

**NAVARRO, S. & ALDANA, A.** “Potencial antioxidante y antimicrobiano de extractos acuosos e hidroalcohólicos de granadilla (*Passiflora ligularis*)”, *Acta Agronómica*, vol. 63 n°3 (2014)

**NORMAS ECUTORIANAS.** Fitoterápico Droga Cruda Especificaciones Generales, 1999.  
Quito-Ecuador. pp.6-12

**OMS, ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD.** “Medicina tradicional Informe de la Secretaría”, *56a Asamblea Mundial de la Salud*, (2003) pp. 1–5.

**OMS, ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD.** [En línea] Diciembre 2013. [Consulta Febrero 13, 2017]. [http://www.who.int/features/factiles/mentales\\_health/es/](http://www.who.int/features/factiles/mentales_health/es/).

**PABÓN, L. et al** “Algunas especies de *Passiflora* y su capacidad antioxidante”. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, vol.16 n°4 (2011), (España) pp. 354–363.

**PALADINO, M., et al.** “Gestión en medicamentos : costos y seguridad”. *Review Medicament*, (2009) pp. 309–321.

**PAREDES, D.** “Estudio Fitoquímico y actividad antioxidante *in vitro* de hojas y flores de *Passiflora mixta*. (Tesis pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias Escuela de Bioquímica y Farmacia. (Riobamba-Ecuador), 2016. p. 56

**PÉREZ, J.; CENTELLES, J; MILLA, P.** “Indicación del coma barbitúrico en el traumatismo craneoencefálico grave”, *Medicina Intensiva. Elsevier*, vol. 26 n°8,(2002), (España) pp. 407–412.

**PRIMOT, S.; D’EECKENBRUGGE.; RIOUX, V.** “Variación morfológica de tres especies de curubas (*Passiflora tripartita* var. *mollissima*, *P. tarminiana* y *P. mixta*) y sus híbridos en el Valle del Cauca (Colombia)”. *Revista Brasileira de Fruticultura*, vol. 27 n° 3 (2005) pp. 467–471.

**QIMIN, L.; VAN DEN HEUVEL, H.; DELORENZO, O.** “Mass spectral characterization of C-glycosidic flavonoids isolated from a medicinal plant (*Passiflora incarnata*)”, *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, vol.562 n°2 (1991), (United State of America) pp. 435–446.

**RAFEL, B., et al** “Abuso de medicamentos: la adicción del siglo XXI”. *FMC Formación Médica Continuada en Atención Primaria*. Elsevier, vol.14 n°5 (2007) pp. 255–262.

**RFE, REAL FARMACOPEA ESPAÑOLA**. Normas Estándar Internacionales, 2009, pp. 671

**RENUKA, M.; VIJAYAKUMAR, N.; RAMAKRISHNAN, A.** “ScienceDirect Chrysin, a flavonoid attenuates histological changes of hyperammonemic rats: A dose dependent study”, *Biomedicine et Pharmacotherapy*. Elsevier Masson SAS, 82, (2016) pp. 345–354.

**RODRÍGUEZ, et al.** “Ansiedad, depresión y salud”. *Suma psicología* [en línea], 2008, (Colombia) 15 (1), pp. 43-74. [Consulta: 4 febrero 2017]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/1342/134212604002.pdf>

**ROMÁN A.** “Evaluación toxicológica aguda de los extractos etanólicos de hojas de *Passiflora mixta* y *Passiflora manicata* sobre *rattus norvegicus* por vía oral”. (Tesis pregrado). ESPOCH. Facultad de Ciencias Escuela de Bioquímica y Farmacia. (Riobamba-Ecuador), 2017. P.67

**RUDNICKI, M.; et. al.** “Antioxidant and antiglycation properties of *Passiflora alata* and *Passiflora edulis* extracts”. *Food Chemistry*, vol. 100 n°2 (2007), (United State of America) pp. 719–724.

**SALUD, O. M. D.** “Plan de acción sobre salud mental 2013-2020”. *Organización mundial de la salud*, (2013) p. 15-54

**TATTINI, M. et al.** “Flavonoids accumulate in leaves and glandular trichomes of *Phillyrea latifolia* exposed to excess solar radiation”. *New Phytologist*, vol. 148 n°1 (2000) pp. 69–77

**USP 28, FARMACOPEA DE LOS ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA**, 24° Edición, Formulario Nacional, 2007, p. 886

**USP 30, FARMACOPEA DE LOS ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA**, 25° Edición, Formulario Nacional, 2006, pp. 85-240

**VARAS, D.** “Análisis de flavonoides en plantas medicinales del sur de Chile con técnica HPLC”, p. 49 (2004).



**VASIĆ, S. M.; STEFANOVIĆ, O.; ČOMIĆ, L.** “Biological activities of extracts from cultivated granadilla *Passiflora alata*”, *EXCLI Journal*, n° 11, (2012) pp. 208–218.

**VILA JATO, J. L.** “Tecnología Farmacéutica. Volumen II: Formas Farmacéuticas” (2001) pp. 15-168

**WAGNER, H. & BLADT, S.** *Plant Drug Analysis: A thin layer Chromatography Atlas*. 2<sup>a</sup> ed. Springer, 2001, pp 230

**WOOTTON, D.; P. C.; MORAN, A.** “Stability of the total antioxidant capacity and total polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices before and after in vitro digestion measured by FRAP, DPPH, ABTS and Folin-Ciocalteu methods”. *Food Research International. Elsevier Ltd*, vol. 44 n°1 (2001) pp. 217–224.

**WOSCH, L.; SANTOS, K. C. DOS; IMIG, D. C. & SANTOS, C. A. M.** “Comparative study of *Passiflora* taxa leaves: II. A chromatographic profile”, *Revista Brasileira de Farmacognosia*, vol. 27 n°1 (2017) pp. 40–49.

**YAO, J.; JIANG, M.; ZHANG, Y.** “International Immunopharmacology Chrysin alleviates allergic inflammation and airway remodeling in a murine model of chronic asthma”. *International Immunopharmacology. Elsevier B.V.*, n° 32, (2016) pp. 24–31.

**ZUCOLOTTO, S. et al.** “Analysis of C-glycosyl flavonoids from South American *Passiflora* species by HPLC-DAD and HPLC-MS.”. *Phytochemical analysis : PCA*, vol.23 n°3 (2011) pp. 232–239.



## ANEXOS

### ANEXO A: Recolección de la materia vegetal- Passiflora mixta





### ANEXO B: Secado de la materia vegetal



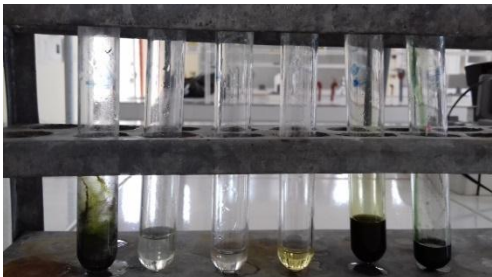


#### ANEXO C: Control de calidad de la material vegetal

		
Determinación de cenizas Totales e insolubles en ácido	Determinación de cenizas solubles en agua	Determinación de humedad

#### ANEXO D: Elaboración del extracto hidroalcohólico de *Passiflora mixta*

	
Método de percolación	Concentración del extracto

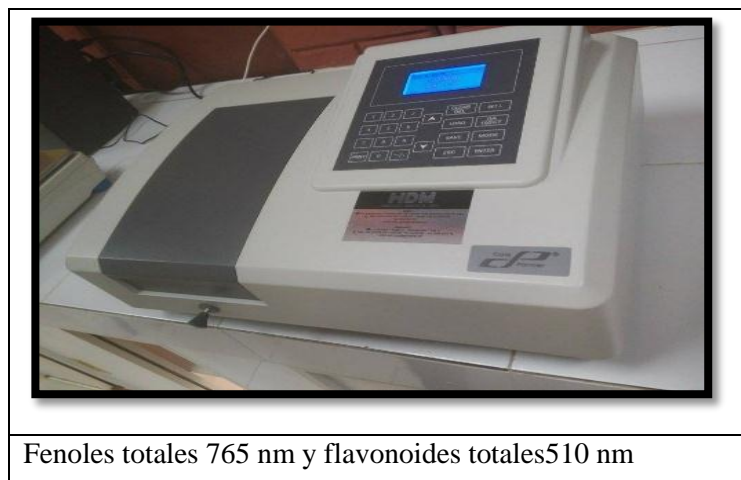
**ANEXO E:** Tamizaje Fitoquímico del extracto hidroalcohólico de *Passiflora mixta*

	
Tamizaje fitoquímico extracto etéreo	Tamizaje fitoquímico extracto alcohólico
	
Tamizaje fitoquímico extracto acuoso	

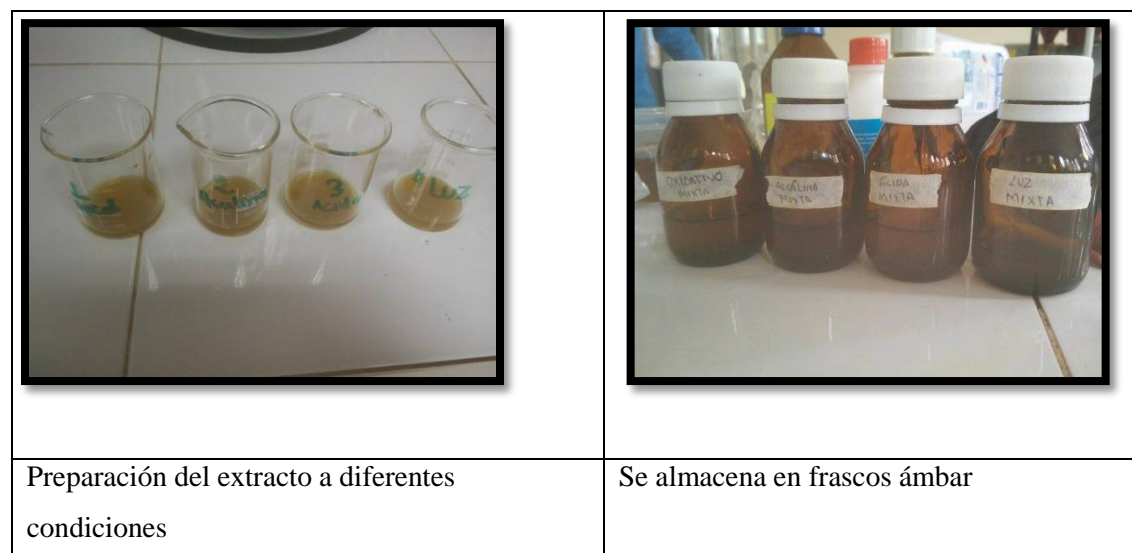
**ANEXO F:** Cromatografía de capa fina del extracto de *Passiflora mixta*


Cromatografía del extracto hidroalcohólico

**ANEXO G:** Cuantificación por espectrofotometría UV de fenoles y flavonoides del extracto hidroalcohólico de *Passiflora mixta*

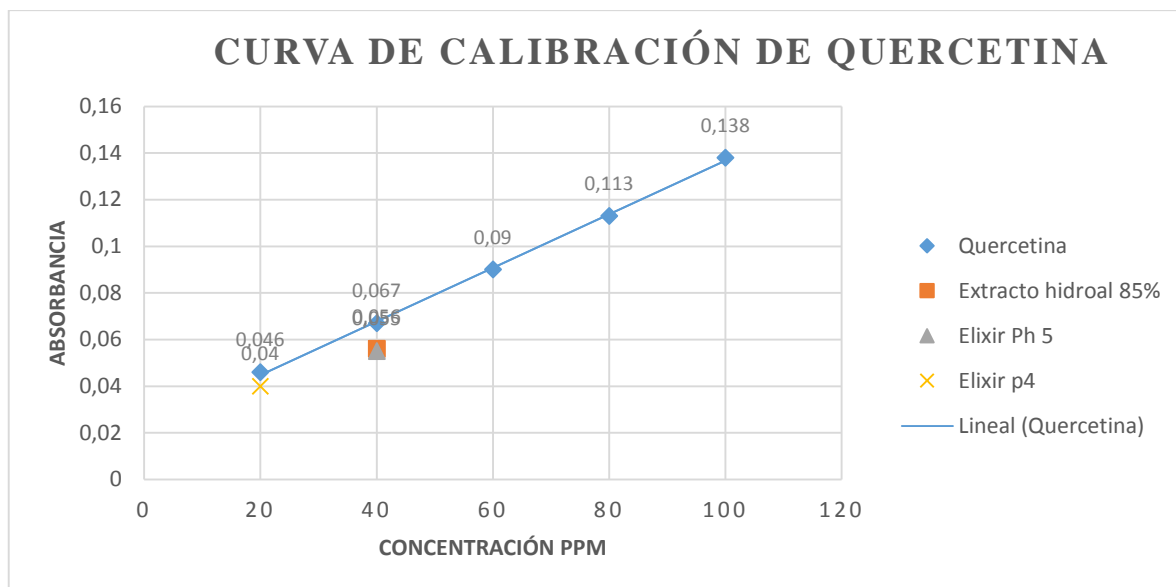


**ANEXO H:** Estabilidad del extracto hidroalcohólico de *Passiflora mixta* a diferentes condiciones



**ANEXO I:** Curva de calibración del estándar de Quercetina

Concentración (ppm)	Absorbancia (510 nm)
20	0,021
40	0,044
60	0,062
80	0,084
100	0,107



#### ANEXO J: Pre formulación de los elixires a pH 4, pH 5 y pH 6



Se almacena los elixires en frascos ámbar

**ANEXO K:** Resultados de las concentraciones a diferentes condiciones

<b>condiciones</b>	<b>absorbancias</b>	<b>Concentraciones</b>	<b>mL EQ/mL</b>	<b>pH</b>
<b>oxidativo</b>	0,03	28,5	12,5549625	5,45
<b>oxidativo</b>	0,04	38,5	16,9602125	5,4
<b>oxidativo</b>	0,02	18,5	8,1497125	4,9
<b>oxidativo</b>	0,02	18,5	8,1497125	4,8
<b>oxidativo</b>	0,017	15,5	6,8281375	4,5
<b>oxidativo</b>	0,016	14,5	6,3876125	4,4
<b>oxidativo</b>	0,01	8,5	3,7444625	4
<b>oxidativo</b>	0,011	9,5	4,1849875	4
<b>alcalino</b>	0,013	11,5	5,0660375	10,65
<b>alcalino</b>	0,012	10,5	4,6255125	10,64
<b>alcalino</b>	0,011	9,5	4,1849875	11,8
<b>alcalino</b>	0,01	8,5	3,7444625	11,5
<b>alcalino</b>	0,009	7,5	3,3039375	12,3
<b>alcalino</b>	0,007	5,5	2,4228875	12
<b>alcalino</b>	0,004	2,5	1,1013125	13
<b>alcalino</b>	0,005	3,5	1,5418375	13
<b>ácido</b>	0,048	46,5	20,4844125	2,1
<b>ácido</b>	0,046	44,5	19,6033625	2
<b>ácido</b>	0,031	29,5	12,9954875	1,84
<b>ácido</b>	0,029	27,5	12,1144375	1,8
<b>ácido</b>	0,02	18,5	8,1497125	1,6
<b>ácido</b>	0,019	17,5	7,7091875	1,63
<b>ácido</b>	0,011	9,5	4,1849875	1
<b>ácido</b>	0,011	9,5	4,1849875	1
<b>Luz</b>	0,056	54,5	24,0086125	5,14
<b>Luz</b>	0,055	53,5	23,5680875	5,14
<b>Luz</b>	0,051	49,5	21,8059875	5,13
<b>Luz</b>	0,05	48,5	21,3654625	5,12
<b>Luz</b>	0,05	48,5	21,3654625	5,05
<b>Luz</b>	0,049	47,5	20,9249375	5,04
<b>Luz</b>	0,047	45,5	20,0438875	5
<b>Luz</b>	0,044	42,5	18,7223125	5,01



**ANEXO L: Resultados de las concentraciones a diferentes pH**

<b>Elixir</b>	<b>Día</b>	<b>pH</b>	<b>Absorbancia</b>	<b>Concentración</b>	<b>mL EQ/ mL</b>
<b>pH4</b>	día 0	4,13	0,05	48,5	21,3654625
<b>pH4</b>	día 0	4,13	0,05	48,5	21,3654625
<b>pH4</b>	día 7	4,12	0,047	45,5	20,0438875
<b>pH4</b>	día 7	4,1	0,045	43,5	19,1628375
<b>pH4</b>	día 15	4,1	0,043	41,5	18,2817875
<b>pH4</b>	día 15	4,11	0,043	41,5	18,2817875
<b>pH4</b>	día 30	4,12	0,043	41,5	18,2817875
<b>pH4</b>	día 30	4,11	0,042	40,5	17,8412625
<b>pH5</b>	día 0	5,1	0,055	53,5	23,5680875
<b>pH5</b>	día 0	5,1	0,055	53,5	23,5680875
<b>pH5</b>	día 7	5,09	0,054	52,5	23,1275625
<b>pH5</b>	día 7	5,1	0,054	52,5	23,1275625
<b>pH5</b>	día 15	5,08	0,053	51,5	22,6870375
<b>pH5</b>	día 15	5,1	0,053	51,5	22,6870375
<b>pH5</b>	día 30	5,1	0,053	51,5	22,6870375
<b>pH5</b>	día 30	5,09	0,053	51,5	22,6870375
<b>pH6</b>	día 0	6,12	0,045	43,5	19,1628375
<b>pH6</b>	día 0	6,12	0,042	40,5	17,8412625
<b>pH6</b>	día 7	6,12	0,035	33,5	14,7575875
<b>pH6</b>	día 7	6,12	0,034	32,5	14,3170625
<b>pH6</b>	día 15	6,1	0,033	31,5	13,8765375
<b>pH6</b>	día 15	6,11	0,03	28,5	12,5549625
<b>pH6</b>	día 30	6,12	0,028	26,5	11,6739125
<b>pH6</b>	día 30	6,12	0,026	24,5	10,7928625

**ANEXO M:** Certificado de identificación de la *Passiflora mixta*

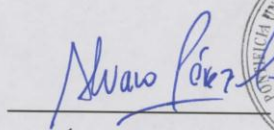
Quito, 06 de Febrero del 2017

**CERTIFICADO DE IDENTIFICACIÓN**

El espécimen examinado corresponden a:

***Passiflora mixta* var. *mixta***

- Clase: Equisetopsida C. Agardh
- Subclase: Magnoliidae Novák ex Takht.
- Superorden: Rosanae Takht.
- Orden: Malpighiales Juss. ex Bercht. & J. Presl
- Familia Passifloraceae Juss. ex Roussel.
- Género: *Passiflora* L.
- Especie: *mixta* L. f.
- Nombre común: tacso de monte



Álvaro J. Pérez

Curador de Angiospermas Herbario QCA



**ANEXO N:** Autorización, trabajo de titulación "Evaluación del extracto hidroalcohólico de *Passiflora mixta* y pre formulación de un elixir"



**Oficio Nro. MAE-DPACH-2017-0341-O**

**Riobamba, 09 de marzo de 2017**

**Asunto:** Autorización, trabajo de titulación "Evaluación del extracto Hidroalcohólico de *Passiflora mixta* y preformulación de Elixir"

Srta.  
Angie Aucapiña Barzola  
En su Despacho

De mi consideración:

En respuesta al Documento No. MAE-DPACH-2016-1902. Me permito informar, que una vez realizada la valoración técnica del proyecto y presentados los requisitos establecidos, se realiza la entrega de la autorización de Investigación científica: Nro. 002-IC-DPACH-MAE-2017, con el tema: "Evaluación del extracto hidroalcohólico de *Passiflora mixta* y preformulación de elixir". La cual adjunto para su lectura y conocimiento de las obligaciones que asume en calidad de Investigador principal.

Por favor realizar los trámites pertinentes para cumplir con lo estipulado en la cláusula 14 de la autorización: "El investigador y la Universidad auspiciante deben firmar un convenio marco de acceso a recursos genéticos con el Ministerio del Ambiente, según lo establecido en Acuerdo Ministerial Nro. 024 mediante el cual se reforma el Acuerdo Ministerial Nro. 034 del 04-02-2015, en el lapso de 6 meses, caso contrario esta autorización no será válida.", con el propósito de evitar inconvenientes posteriores.

La fecha de entrega del informe final es el 25/08/2017.

Con sentimientos de distinguida consideración.

Atentamente,



*Documento firmado electrónicamente*

Ing. Marcelo Patricio Pino Cáceres  
**DIRECTOR PROVINCIAL DEL AMBIENTE DE CHIMBORAZO,**  
**ENCARGADO**

Papel Ecológico

**DIRECCIÓN PROVINCIAL DEL AMBIENTE DE CHIMBORAZO**  
Av. 9 de Octubre y Duchicela, Quinta Macay  
Riobamba - Ecuador  
Código Postal: 060109  
Teléfono: (093 31) 2610029  
www.ambiente.gob.ec

1/2

MATERIALES Y EQUIPOS		
Adhesivos	Kitasato	Vidrio reloj
Aspersor	Pera de succión	Papel de empaque
Balón esmerilado	Pinza de cápsula	Papel aluminio
Cápsulas de porcelana	Pipetas volumétricas	Papel filtro
Crísoles	Piseta	Balanza analítica
Envases ámbar	Placas de sílica gel	Cámara UV
Embudo de Buchner	Probetas	Molino
Embudo simple	Reverbero	Sonificador
Embudo de reflujo	Termómetro	Estufa
Espátula	Tubos de ensayo	Rotavapor
Gradilla	Varilla de agitación	Mufla
Vasos de precipitación		

**OBLIGACIONES Y CONDICIONES PARA LA VIGENCIA DE ESTA AUTORIZACIÓN:**

19. ESTA AUTORIZACIÓN FACULTA LA COLECCIÓN/ MANIPULACIÓN DE ESPECIMENES VIVOS, MISMOS QUE **NO PODRÁN** SER UTILIZADOS COMO MATERIAL PARENTAL PARA MANEJO COMERCIAL.
20. ESTA AUTORIZACIÓN ES EMITIDA BAJO LOS TÉRMINOS EXPRESADOS EN LA PROPUESTA DE INVESTIGACIÓN, EN TAL SENTIDO HABILITA EL MANEJO DE FAUNA/ FLORA O MICROORGANISMOS QUE HAYAN ESTADO EXPRESADOS EN LA PROPUESTA TÉCNICA TANTO EN TAXONES COMO EN NUMERO DE INDIVIDUOS.
21. LOS INVESTIGADORES DEBERÁN REALIZAR SUS INTERVENCIONES EN CAMPO BAJO UN MANEJO RESPONSABLE Y ÉTICO CON LOS ESPECIMENES ASÍ COMO CON LOS EQUIPOS Y MATERIALES UTILIZADOS DURANTE LA INVESTIGACIÓN.
22. PARA EL INGRESO A ÁREAS DE PROPIEDAD PRIVADA LOS INVESTIGADORES DEBERAN CONTAR CON LA AUTORIZACIÓN DEL RESPECTIVO PROPIETARIO.
23. PARA EL INGRESO A ÁREAS NATURALES PROTEGIDAS LOS INVESTIGADORES DEBERAN CONTAR CON LA AUTORIZACIÓN DEL RESPECTIVO RESPONSABLE DE ÁREA.
24. NO SE AUTORIZA LA UTILIZACIÓN DE ARMAS DE FUEGO, EXPLOSIVOS O SUBSTANCIAS VENENOSAS COMO METODOLOGÍA DE ESTA INVESTIGACIÓN.
25. SE PROHÍBE EL INGRESO A LAS ÁREAS NATURALES DEL ESTADO ETILICO, PORTANDO ARMAS, EXPLOSIVOS, TÓXICOS, CONTAMINANTES, MATERIAL VEGETATIVO, ESPECIES ANIMALES Y EN GENERAL TODO AQUELLO QUE ATENTE A LA INTEGRIDAD DEL ÁREA.
26. ESTA AUTORIZACIÓN DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA PODRÁ SER RENOVADA ANUALMENTE PREVIO AL CUMPLIMIENTO DE LAS OBLIGACIONES CONTRAIDAS POR EL INVESTIGADOR, ENTREGA Y APROBACIÓN DE INFORMES PARCIALES O FINALES EN LAS FECHAS INDICADAS.
27. SE SOLICITARÁ PRÓRROGA QUINCE DÍAS ANTES DE LA FECHA DE VENCIMIENTO QUE INDICA ESTE DOCUMENTO.
28. TODO USO INDEBIDO DE ESTA AUTORIZACIÓN, ASÍ COMO EL INCUMPLIMIENTO DE ASPECTOS LEGALES, ADMINISTRATIVOS O TÉCNICOS ESTABLECIDOS EN LA MISMA, SERÁN SANCIONADOS DE ACUERDO A LA CODIFICACIÓN A LA LEY FORESTAL Y DE CONSERVACIÓN DE ÁREAS NATURALES Y VIDA SILVESTRE Y AL TEXTO UNIFICADO DE LA LEGISLACIÓN AMBIENTAL SECUNDARIA, Y DEMAS NORMATIVA PERTINENTE.
29. EL INCUMPLIMIENTO DE CUALQUIERA DE ESTAS DISPOSICIONES ASÍ COMO EL USO INDEBIDO DE ESTE DOCUMENTO, O EL INCUMPLIMIENTO DE LAS DISPOSICIONES LEGALES, ADMINISTRATIVAS O TÉCNICAS ESTABLECIDAS EN LA MISMA, SERÁN SANCIONADOS CONFORME A LA LEY FORESTAL Y DE CONSERVACIÓN DE ÁREAS NATURALES Y VIDA SILVESTRE CODIFICADA, TEXTO UNIFICADO DE LA LEGISLACIÓN AMBIENTAL SECUNDARIA Y CON LA SUSPENSIÓN INMEDIATA DE LA PRESENTE AUTORIZACIÓN.
30. TASA POR AUTORIZACIÓN: 20 VEINTE DÓLARES DEPOSITADOS EN EL BANCO NACIONAL DE FOMENTO CUENTA 0010000785, CON REFERENCIA N° 580364815, RECIBO DE CAJA 2308

  
Ing. Marcelo Pino Cáceres  
DIRECTOR PROVINCIAL DEL AMBIENTE DE CHIMBORAZO (E)

MA: 01/03/2017

La falta de entrega de los resultados finales en los formatos indicados será causa suficiente para que el investigador no pueda continuar con las actividades de investigación en el país.





# AUTORIZACIÓN DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA

No. 002-IC-DPACH-MAE-2017

FLORA X

FAUNA

VARIOS

El Ministerio del Ambiente, en uso de las atribuciones que le confiere la Codificación a la Ley Forestal y de Conservación de Áreas Naturales y Vida Silvestre, autoriza a:

Nombres y Apellidos	C.C.	Nacionalidad
Angie Paola Aucapiña Barzola	2101147540	Ecuatoriana

Para llevar a cabo la investigación: "Evaluación del extracto hidroalcohólico de *Passiflora mixta* y preformulación de elixir"

De acuerdo a las siguientes especificaciones:

1. Solicitud de Angie Paola Aucapiña Barzola
2. Auspicio de institución científica nacional: ESPOCH ( Dra. Susana Abdo, docente facultad de Ciencias)
3. Auspicio de institución científica internacional: Ninguna
4. Institución que financia la investigación: Autofinanciado
5. Contraparte de la Dirección Provincial del Ambiente de Chimborazo: Mvz. Maria Dolores Astudillo Vallejo, Dirección Provincial del Ambiente de Chimborazo
6. Vigencia de esta Autorización: 01/03/2017 a 01/08/2017
7. Fecha de entrega de informe final: 25/08/2017
8. Valoración Técnica del Proyecto: Mvz. Maria Dolores Astudillo Vallejo.
9. Se autoriza la colección de: Muestra de *Passiflora mixta* de 200 g para su análisis en los Laboratorios de la escuela de Bioquímica y Farmacia de la ESPOCH y depósito de una muestra en el Herbario "CHEP" de la ESPOCH.
10. Esta Autorización **NO HABILITA LA MOVILIZACIÓN DE FLORA / FAUNA O MICROORGANISMOS**, sin el correspondiente permiso. Competencia de cada una de las direcciones provinciales del MAE, y que deberá gestionarse en cada dependencia.
11. Esta Autorización **NO HABILITA EXPORTACIÓN DE FLORA/FAUNA O MICROORGANISMOS**, sin la correspondiente autorización de la Dirección Nacional de Biodiversidad o cada uno de los Centros de Tenencia y Manejo de Flora/Fauna (Herbarios/ Museos de Historia Natural) que cuente con patente vigente emitida por la Autoridad Ambiental.
12. Los especímenes no podrán ser utilizados en cualquier actividad de bioprospección ni **ACCESO A RECURSO GENÉTICO**, la competencia de Acceso a Recurso genético es exclusiva del MAE, Unidad de Recursos Genéticos.
13. De los resultados que se desprenda de la investigación, no podrán ser utilizados para estudios posteriores de Acceso a Recurso Genéticos sin la previa autorización del Ministerio del Ambiente.
14. **EL INVESTIGADOR Y LA UNIVERSIDAD AUSPICIANTE DEBEN FIRMAR UN CONVENIO MARCO DE ACCESO A RECURSOS GENÉTICOS CON EL MINISTERIO DEL AMBIENTE, SEGÚN LO ESTABLECIDO EN ACUERDO MINISTERIAL NRO. 024 MEDIANTE EL CUAL SE REFORMA EL ACUERDO MINISTERIAL NRO. 034 DEL 04-02-2015 EN EL LAPSO DE 6 MESES. CASO CONTRARIO ESTA AUTORIZACIÓN NO SERÁ VÁLIDA.**

## Obligaciones del investigador:

15. Entregar a la Dirección provincial del Ambiente de Chimborazo, (02) dos copias del informe final impreso en formato PDF, (incluyendo una versión digital), de los resultados de la autorización otorgada. (Adjuntar el o los certificados originales del depósito o recibo de las muestras, emitidas por las instituciones científicas ecuatorianas como internacionales depositarias de material biológico.
16. Citar en las publicaciones científicas, Tesis o informes técnicos científicos el número de Autorización de Investigación Científica otorgada por el Ministerio del Ambiente, con el que se colectó el material biológico.
17. Entregar copias de las publicaciones a la Dirección Provincial del Ambiente de Chimborazo
18. Entregar copias del material fotográfico que puedan ser utilizados para difusión. (se respetara los derechos de autoría).

Del incumplimiento de las obligaciones dispuestas en los numerales 15, 16, 17, 18 se responsabilizan al solicitante y auspiciantes.

## SE AUTORIZA LA INVESTIGACION EN LAS PROVINCIAS, CANTONES:

Colección de muestra de *Passiflora mixta* en el cantón Penipe, Provincia de Chimborazo

## SE AUTORIZA EL ESTUDIO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS CON EL PROPÓSITO DE:

Evaluar la calidad del extracto hidroalcohólico de *Passiflora mixta* mediante la comparación de las propiedades físico químicas y microbiológicas con estándares de la USP, para la preformulación de un elixir.

## SE AUTORIZA LA UTILIZACIÓN DE LOS SIGUIENTES MATERIALES Y/O EQUIPOS PARA LA REALIZACIÓN DE ESTA INVESTIGACIÓN:

La falta de entrega de los resultados finales en los formatos indicados será causa suficiente para que el investigador no pueda continuar con las actividades de investigación en el país.